FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1914 — THÈSE — N° .....

PRÉSENTÉE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention Médecine)

LES GRAINS BOTRYOMYCOTIQUES

LEUR SIGNIFICATION EN PATHOLOGIE ET EN BIOLOGIE GÉNÉRALES

PAR

J. E. MAGROU

LICENCIÉ ÈS SCIENCES NATURELLES, ATTACHÉ A L'INSTITUT PASTEUR

Né à Béziers (Hérault), le 6 Août 1883

Président : M. GILBERT, *professeur.*

LAVAL

L. BARNÉOUD & Cie, IMPRIMEURS

1914

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Le Doyen : M. LANDOUZY.

Professeurs :

MM. NICOLAS	Anatomie.
CH. RICHET	Physiologie.
WEISS	Physique médicale.
DESGREZ	Chimie organique et chimie générale.
BLANCHARD	Parasitologie et histoire naturelle médicale.
ACHARD	Pathologie et thérapeutique générales.
WIDAL, TEISSIER	Pathologie médicale.
LEJARS	Pathologie chirurgicale.
P. MARIE	Anatomie pathologique.
PRENANT	Histologie.
AUGUSTE BROCA	Opérations et appareils.
POUCHET	Pharmacologie et matière médicale.
MARFAN	Thérapeutique.
CHANTEMESSE	Hygiène.
THOINOT	Médecine légale
LETULLE	Histoire de la médecine et de la chirurgie.
ROGER	Pathologie expérimentale et comparée.
DEBOVE, LANDOUZY, GILBERT, CHAUFFARD	Clinique médicale.
HUTINEL	Maladies des enfants.
G. BALLET	Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.
GAUCHER	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.
DEJERINE	Clinique des maladies du système nerveux.
DELBET, QUENU, RECLUS, HARTMANN	Clinique chirurgicale.
DE LAPERSONNE	Clinique ophtalmologique.
LEGUEU	Clinique des maladies des voies urinaires.
BAR, PINARD, RIBEMONT-DESSAIGNE	Clinique d'accouchements.
POZZI	Clinique gynécologique.
KIRMISSON	Clinique chirurgicale infantile.
A. ROBIN	Clinique thérapeutique.

Agrégés en exercice :

MM.	MM.	MM.	MM.
ALGLAVE	GUENIOT	LÉRI	RICHAUD
BERNARD	GUILLAIN	LOEPER	ROUSSY
BRANCA	JEANNIN	MAILLARD	ROUVIÈRE
BRUMPT	JOUSSET (André)	MOCQUOT	SAUVAGE
CAMUS	LABBÉ (Henri)	MULON	SCHWARTZ (Ans.)
CASTAIGNE	LAIGNEL LAVASTINE	NICLOUX	SICARD
CHAMPY	LANGLOIS	NOBÉCOURT	TANON
CHEVASSU	LECENE	OKINCZYC	TERRIEN
COUVELAIRE	LEMIERRE	OMBREDANNE	TIFFENEAU
DESMAREST	LENORMANT	RATHERY	VILLARET
GOUGEROT	LEQUEUX	RETTERER	ZIMMERN
GRÉGOIRE	LEREBOULLET	RIBIERRE	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

267

A LA MÉMOIRE

DE

NOËL BERNARD

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/lesgrainsbotryom0030jema

Le présent travail a été entrepris à l'Institut Pasteur sur le conseil de M. le Professeur Borrel, et poursuivi dans son laboratoire. Je suis heureux de remercier M. Borrel de la bienveillance qu'il m'a témoignée et des encouragements qu'il m'a donnés.

M. le Professeur M. Nicolle, M. le Docteur Pinoy, ont bien voulu s'intéresser aux résultats de ce travail ; je leur suis vivement reconnaissant du concours qu'ils m'ont obligeamment prêté pour l'exécution de diverses expériences, et plus encore des suggestions générales qu'ils m'ont fournies au cours de ces recherches.

M. le Professeur Gilbert a bien voulu accepter la présidence de cette thèse ; j'ai été très sensible à l'honneur qu'il m'a fait, et je le prie d'agréer l'expression de mes remerciements respectueux.

INTRODUCTION (1)

Parmi les bactéries pathogènes pour les Vertébrés supérieurs, il en est peu qui offrent dans leurs modes d'adaptation à leurs hôtes autant de variété que le Staphylocoque doré. Ce microorganisme provoque le plus souvent chez les hôtes qui l'hébergent des suppurations locales que l'on distingue suivant leur siège en abcès, furoncles ou ostéomyélites, mais qui ont toutes pour caractère commun leur marche aiguë, accompagnée des symptômes classiques de « l'inflammation ». Il peut d'autre part donner lieu à des infections généralisées, d'allure pyohémique, et aussi à des maladies chroniques.

La plus remarquable de ces dernières est la botryomycose du Cheval. Si les propriétés pathogènes du staphylocoque sont extrêmement variables, il n'en est pas de même, en général, de ses caractères morphologiques, qui restent à peu de chose près les mêmes dans tous les cas. Qu'un staphylocoque provoque un bouton d'acné ou une pyohémie généralisée mortelle, il reste morphologiquement identique à lui-même. Il en est tout autrement dans la botryomycose. Ici, la maladie se distingue non seulement par sa marche chronique, par la durée en quelque sorte indéfinie de ses lésions, mais encore par l'adaptation morphologique très spéciale que subit le parasite dans l'organisme envahi. Dans les lésions de botryomycose, les staphylocoques apparaissent en effet sous l'aspect de grains mûriformes, souvent visibles à l'œil nu, et constitués par des amas de *cocci*, entourés d'une enveloppe dure et réfringente, à

(1) Les numéros entre crochets renvoient à l'index bibliographique.

contours bien définis, et ayant ses réactions colorantes propres (fig. 1 de la planche).

En vérité, beaucoup d'auteurs se sont refusés à admettre qu'un organisme si hautement différencié pût être une bactérie. Ils ont voulu y voir un être plus évolué, Champignon ou Protozoaire. Les expériences qui font l'objet du présent travail montrent qu'il est possible, en adaptant dans des conditions déterminées certains staphylocoques à la vie en commun avec le cobaye, de voir ces bactéries prendre des formes comparables à celles des grains de la botryomycose, ne s'en distinguant à vrai dire que par une complexité plus grande encore et une différenciation plus manifeste. Dans les lésions expérimentales de botryomycose, le staphylocoque apparaît sous forme d'amas de microcoques entourés non plus d'une enveloppe amorphe, mais d'une couronne régulière de massues réfringentes disposées radiairement (fig. 2, 5 et 6 de la planche) ; l'ensemble du grain, vu en coupe, rappelle assez exactement l'aspect d'une inflorescence de Composée radiée, dont les fleurs en tube seraient représentées par le groupe central de cocci, et les fleurs en languette par la couronne périphérique de massues.

Il pourra sembler légitime de conclure de ce résultat que la botryomycose n'est qu'un mode particulier de réaction à l'infection staphylococcique, et d'autre part que l'action d'un facteur extérieur tel que le parasitisme peut entraîner chez un être aussi simple qu'une bactérie des complications de forme et de structure déjà considérables.

CHAPITRE PREMIER

LA BOTRYOMYCOSE SPONTANÉE CHEZ LE CHEVAL

Si le problème de l'étiologie de la botryomycose a soulevé de multiples controverses, l'histoire clinique et anatomique de la maladie est en revanche bien connue, et il y a peu à ajouter aux descriptions des auteurs qui ont étudié la question à ce double point de vue.

D'abord décrite chez le Cheval [6, 47], la botryomycose a été retrouvée chez les Bovidés [5, 11, 14, 17, 18, 19, 20, 45], chez le Porc [55] et chez le Chien. Son existence chez l'Homme est douteuse ; on verra plus loin que le rapprochement tenté entre la botryomycose et certaines tumeurs superficielles observées chez l'Homme ne se justifie pas et n'est d'ailleurs généralement plus admis à l'heure actuelle (1). C'est la botryomycose du Cheval, la plus commune et la mieux connue, qui sera prise ici comme type de description.

La maladie, au moins au début, est strictement locale. Elle

(1) Il semble bien que le cas décrit chez l'Homme par Kaiser et Gryns [25] doive être rattaché à la botryomycose authentique. Il s'agissait d'une tumeur du pied criblée de fistules d'où s'écoulait un liquide jaunâtre sanguinolant parsemé de corpuscules grisâtres, dans lesquels se trouvaient des boules de dimensions variables, constituées par une membrane mince, se colorant faiblement au bleu de méthylène et renfermant une grande quantité de microcoques qui se colorent d'une manière intense. L'ensemencement du pus prélevé aseptiquement dans une caverne qui n'avait pas encore de communication avec l'extérieur a donné, comme il est constant dans les cas de botryomycose, des colonies de *cocci* liquéfiant la gélatine et prenant le Gram.

se manifeste par le développement, au niveau d'une plaie infectée, d'une tumeur dure et diffuse située dans le tissu cellulaire sous-cutané. Elle succède le plus souvent à un traumatisme : coup de pied, blessure de harnachement, etc. Le siège des tumeurs varie avec le siège du traumatisme originel ; les localisations à la pointe de l'épaule, à l'encolure, au garrot, au poitrail, à la mamelle sont fréquemment observées. Ce sont pourtant les traumatismes chirurgicaux qui entrent le plus souvent en ligne de compte, et parmi ceux-ci la castration, à laquelle peut succéder une botryomycose du cordon testiculaire connue sous le nom de « Champignon de castration » (1).

Le trait clinique essentiel de la botryomycose, quel que soit son siège, est la lenteur de son évolution. La tumeur augmente progressivement de volume ; elle est mal limitée, adhérente au tégument, et s'ouvre au dehors par un ou plusieurs orifices, d'où s'échappe un pus abondant, qui renferme de tout petits grains jaunâtres, ressemblant à l'œil nu aux « grains jaunes » du pus actinomycotique. Dans le cas de botryomycose du cordon testiculaire, le champignon de castration apparaît au niveau de la plaie opératoire, dont les lèvres bourgeonnent et donnent naissance à une tumeur qui grossit rapidement, jusqu'à atteindre le volume du poing, et parfois celui d'une tête d'homme. La tumeur est renflée à son extrémité inférieure, ce qui lui donne l'aspect d'un battant de cloche ou d'une aubergine.

(1) P. Chaussé [9] a précisé comme il suit le mode de formation du champignon de castration : la castration est pratiquée chez le cheval au moyen de casseaux, morceaux de bois serrés par des ligatures et qui, appliqués au-dessus des testicules et laissés à demeure, provoquent une nécrose par écrasement. La nécrose étant produite et le casseau enlevé, une portion mortifiée du cordon peut rentrer dans la plaie sous l'influence des contractions du crémaster, et, par l'inclusion d'un fragment de tissu septique, déterminer une funiculite aiguë. La funiculite peut guérir par élimination du tissu nécrosé, ou passer à l'état chronique, avec fistule provenant de la plaie opératoire. Divers microorganismes végètent dans la plaie infectée ; que l'un d'eux pénètre dans le tissu enflammé, il pourra y provoquer l'apparition de la tumeur botryomycotique. En fait, d'après Chaussé, toute funiculite de castration qui se prolonge évolue finalement vers la botryomycose.

Le processus inflammatoire gagne rapidement les tissus environnant la tumeur, qui contracte des adhérences avec les téguments et les plans sous-jacents. Dans le cas du champignon de castration, l'inflammation intéresse dès le début la tunique vaginale, qui se soude au cordon testiculaire. Les lésions, d'abord locales, peuvent se propager aux ganglions lymphatiques, et même devenir le point de départ d'une généralisation. Les nodules secondaires s'observent surtout dans les poumons, dans le péritoine, dans la rate et dans le rein ; ils se présentent d'ordinaire sous forme de masses compactes et volumineuses ; cependant, dans certains cas de généralisation pulmonaire, on a pu voir le poumon parsemé de petits nodules disséminés dans toute son étendue [8, 52].

Au point de vue histologique, le botryomycome est une tumeur inflammatoire, constituée par une accumulation de leucocytes, parmi lesquels se différencient des fibres conjonctives qui s'ordonnent en faisceaux et donnent à la masse une structure alvéolaire. C'est à l'abondance et à l'épaisseur de ces travées fibreuses que la tumeur doit sa consistance dure.

Les amas leucocytaires limités par les alvéoles fibreuses constituent les « nodules » botryomycotiques. Ils renferment dans leur partie centrale un des grains caractéristiques de la maladie, et sont formés de leucocytes polynucléaires, entremêlés de quelques mononucléaires qui deviennent de plus en plus nombreux vers la périphérie du nodule. Le tissu nodulaire se continue par transition insensible avec le tissu conjonctif des travées qui forment le squelette de la tumeur. On peut donc, avec G. Vallillo [54], distinguer plusieurs zones dans le nodule botryomycotique : une zone centrale, occupée par le grain entouré d'un nombre considérable de leucocytes neutrophiles ; une zone de passage, où l'on trouve déjà, parmi les polynucléaires, un certain nombre de plasmazellen ; ces derniers éléments prédominent dans la zone suivante, que l'on peut appeler zone intermédiaire. Enfin la zone externe est occupée par des fibroblastes et des fibrilles.

Les grains, examinés à l'état frais au microscope, ont l'aspect

d'une mûre ou d'une grappe de raisin ; ils sont en effet constitués par la réunion de plusieurs sphérules très réfringentes, dont le diamètre varie de 20 à 100 μ (1).

Ce n'est que sur les coupes histologiques que l'on peut apprécier avec précision la structure des grains. On en rencontre de deux sortes ; les uns, les plus petits, apparaissent en coupe sous forme circulaire ; ils sont formés d'une sphérule unique, ce sont des grains simples. Les autres, plus volumineux, sont formés par la réunion d'un plus ou moins grand nombre de sphérules et revêtent de ce fait l'aspect mûriforme caractéristique ; on peut les appeler grains composés.

Un grain simple est constitué par une coque arrondie à double paroi, très réfringente, renfermant un amas serré de granulations circulaires, de 1 μ de diamètre environ, ayant l'aspect de microcoques. Ces microcoques se colorent par les couleurs basiques d'aniline et prennent le Gram. Ils sont cimentés par une gangue qui ne prend pas le Gram, mais se colore fortement par les couleurs acides telles que l'éosine et surtout l'orange, ou encore par le picro-indigo-carmin ou le vert-lumière. La structure de cette gangue n'est pas homogène, mais granuleuse, comme si elle renfermait des microcoques dégénérés, ayant perdu leurs réactions colorantes primitives. La coque périphérique se colore comme la gangue, dont elle semble être une condensation, mais elle apparaît plus foncée, à cause de sa grande réfringence. En somme, l'aspect général du grain est celui d'une colonie de staphylocoques dont les éléments seraient cimentés par une gangue interstitielle condensée à la périphérie en une paroi kystique.

Les grains composés (fig. 1 de la planche) sont formés par un assemblage de sphérules semblables à peu de chose près au

(1) C'est à cette disposition en grappe que les grains doivent le nom de *Botryomyces* qui leur a été donné par Bollinger [6] et sous lequel ils sont encore souvent désignés (βοτρυς, grappe ; — μυκος, champignon, ce dernier terme rappelant l'hypothèse primitivement émise sur la nature de ces formations). Il semble préférable d'abandonner cette appellation, qui correspond à une interprétation erronée.

grain simple qui vient d'être décrit. Ils sont entourés d'une paroi kystique analogue à celle des grains simples, mais à contour polycyclique. Dans les grains volumineux, les sphérules centrales ont perdu leur individualité, et paraissent confondues en une masse homogène ; pourtant, à un examen attentif, cette masse se montre parcourue par un fin réticulum à mailles polygonales, qui correspond vraisemblablement aux parois des sphérules, devenues polyédriques par pression réciproque. Les microcoques sont surtout nombreux dans les sphérules de la périphérie du grain. La gangue interstitielle, plus abondante ici que dans les grains simples, peut perdre par endroits son apparence granuleuse, et se présenter alors sous forme de blocs hyalins réfringents, plus ou moins volumineux.

*
* *

Telles sont les connaissances auxquelles conduit l'observation directe des faits ; elles sont confirmées par les descriptions concordantes des nombreux auteurs qui ont étudié la botryomycose. Quant à la signification même de ces faits, et notamment de la présence de ces singuliers grains mûriformes qui ne se rencontrent dans aucune autre maladie, elle a fait l'objet des interprétations les plus diverses. A de rares exceptions près, tous les auteurs se sont accordés à considérer les grains comme des parasites, et la tumeur comme une réaction locale de l'organisme infesté ; c'est sur la nature même de ces parasites qu'a généralement porté la discussion.

Il est possible de grouper et de résumer, en suivant l'ordre historique, les diverses opinions qui ont été proposées.

Les premiers observateurs qui décrivirent la maladie, Bollinger [6], qui la découvrit en 1869, Rivolta [47], qui la retrouva en 1879, la considérèrent comme une mycose, due à un champignon voisin des Streptothricées de l'actinomycose. Le nom même qui fut donné à la maladie, et ceux de *Botryomyces equi* et de *Discomyces equi* que reçut le parasite rappellent cette interprétation, justifiée en quelque mesure par l'ana-

logie macroscopique des grains jaunes de la botryomycose avec ceux de l'actinomycose.

On essaya dès lors d'appliquer les méthodes pasteuriennes à la botryomycose, et d'obtenir des cultures pures du champignon supposé. Mais les nombreux essais de culture qui furent tentés ne donnèrent jamais aucun microorganisme offrant des caractères de Streptothricée. En revanche, l'ensemencement du pus et des grains jaunes donnait constamment, et en général à l'état de pureté, d'abondantes cultures d'une bactérie répondant à la diagnose du staphylocoque doré. Cette bactérie poussait en effet abondamment sur tous les milieux usuels, donnant comme le staphylocoque des colonies rondes, opaques, d'un beau jaune doré, liquéfiant la gélatine, et se montrant au microscope constituées par des *cocci* immobiles, groupés en amas irréguliers et prenant le Gram.

La constance de ce résultat ne tarda pas à faire naître l'opinion que la botryomycose était une maladie infectieuse due non à un champignon, mais à un staphylocoque dont les colonies auraient la propriété de s'entourer, dans l'organisme de leur hôte, d'une enveloppe réfringente. La structure des grains, avec leurs amas centraux de *cocci* si semblables aux bactéries obtenues en culture, contribuait à imposer avec force cette manière de voir.

Divers auteurs, parmi lesquels Rabe [44], Kitt [26], Poncet et Dor [43], ayant observé quelques caractères spéciaux aux *cocci* obtenus en culture, en firent une espèce ou tout au moins une variété distincte du staphylocoque, sous le nom de botryocoque (*Botryococcus ascoformans* Kitt, *Micrococcus botryogenes* Rabe). Mais les caractères distinctifs attribués au botryocoque (aspect en tulipe de l'entonnoir de liquéfaction dans les cultures en gélatine, odeur de fraise des colonies, variation du pouvoir chromogène qui existerait entre 20 et 27° seulement) se montrèrent fort inconstants, et pouvaient d'ailleurs se rencontrer à divers degrés chez des staphylocoques authentiques. Aussi leur valeur systématique fut-elle contestée, et de nombreux bactériologistes, refusant toute spécificité à la botryomy-

cose, conclurent à l'identité du *Botryococcus ascoformans* et du *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Cependant la théorie qui attribuait au staphylocoque ou botryocoque le principal rôle dans la formation des grains jaunes, n'était pas sans soulever des objections. D'une part le botryocoque ne prenait jamais en culture de formes comparables aux amas mûriformes trouvés dans les lésions ; d'autre part, les inoculations de ce microbe aux animaux ne reproduisaient pas la botryomycose, mais donnaient lieu à des suppurations banales, telles que tout staphylocoque est capable d'en produire (1). Quant aux staphylocoques obtenus régulièrement dans les cultures de pus botryomycotique, ils pouvaient n'être que des bactéries saprophytes de la peau, qui, végétant au niveau de la tumeur ulcérée, y produisaient des foyers secondaires de suppuration.

En présence de ces objections, une interprétation nouvelle fut proposée. Poncet et Dor [**43**], sans méconnaître le rôle que le botryocoque pouvait jouer dans la production des tumeurs botryomycotiques, cessèrent de voir dans les grains jaunes un aspect du parasite ; ils admirent que ces éléments résultaient de la dégénérescence des cellules de l'animal atteint, et décrivirent leur formation aux dépens de sphérules nées chacune dans un noyau de cellule épithéliale. Ces sphérules, présentant les réactions colorantes de la chromatine et prenant le Gram, augmentaient de volume jusqu'à remplir toute la cellule, dont le protoplasma disparaissait graduellement ; puis plusieurs d'entre elles s'agglutinaient en amas mûriforme. Poncet et Dor rapprochaient ce processus de la dégénérescence pycnotique des noyaux cellulaires.

Les mêmes auteurs observèrent des faits qu'ils jugèrent comparables dans des tumeurs humaines, à caractères cliniques bien spéciaux, et qu'ils identifièrent aux botryomycomes. Il

(1) Il convient pourtant de signaler un résultat positif obtenu par Rabe [**44**], qui chez un cheval inoculé avec une culture pure de botryocoque, observa une tumeur comparable aux botryomycomes spontanés, formée de nodules renfermant des « colonies en grappes de microcoques ». De Jong [**24**], a obtenu un résultat analogue.

s'agit de petites tumeurs superficielles, pédiculées, à surface ulcérée, siégeant le plus souvent aux mains ou à la lèvre inférieure (1). En fait, ni l'étude histologique de ces productions, ni leur étude bactériologique n'ont justifié le rapprochement proposé par Poncet et Dor. Les tumeurs décrites par ces auteurs sous le nom de botryomycose humaine ont la structure de bourgeons charnus angiomateux, ne rappelant en aucune manière la constitution des botryomycomes vrais; d'autre part, il ne semble pas que l'on y ait souvent constaté avec certitude la présence de grains homologues de ceux du cheval; enfin, s'il arrive que l'on isole des staphylocoques de la surface ulcérée des tumeurs humaines, ce résultat n'a rien de constant, et ce sont bien souvent d'autres bactéries qui se développent dans les cultures [1, 49]. Sabrazès et Laubie [49], Louis Legroux [28], et plus récemment Lenormant [29], ont clairement développé ces divers arguments, qui s'opposent à l'identification des deux maladies.

La botryomycose humaine n'en a pas moins gardé quelques partisans, et l'étude comparée de cette affection et de la botryomycose du cheval a suggéré à Letulle [30, 31] une nouvelle hypothèse sur l'étiologie de la maladie et la nature et le mode de formation des grains jaunes. Letulle, abandonnant sur ce dernier point les vues de Poncet et Dor, revient à l'interprétation primitive, qui considérait les amas mûriformes comme des parasites. Mais selon lui, ces parasites ne seraient ni des cham-

(1) Dor attribue à ces tumeurs, ainsi d'ailleurs qu'aux botryomycomes du cheval, une origine épithéliale : elles seraient formées aux dépens de glandes sudoripares, tandis que le champignon de castration naîtrait, par un processus analogue, des débris épididymaires subsistant dans le moignon du cordon. En d'autres termes, la botryomycose humaine serait une fibro-adénose sudoripare, et la botryomycose équine une fibro-adénose épididymaire. Cette origine glandulaire des deux sortes de tumeurs peut difficilement se soutenir, les tumeurs humaines s'observant souvent en des régions dépourvues de glandes sudoripares, comme la lèvre inférieure, et la botryomycose du cheval prenant souvent naissance soit au niveau du cordon testiculaire, alors que l'épididyme a été complètement détruit, soit même, comme on l'a vu, en des régions du corps fort éloignées de l'épididyme.

pignons, comme on l'avait cru primitivement, ni des bactéries, comme on l'avait supposé ensuite, mais des Amibes. Les grains mûriformes seraient formés par la réunion de plusieurs de ces Amibes, en état de dégénérescence hyaline et dont les noyaux auraient disparu ; quant aux *cocci* inclus dans les grains, Letulle les considère non comme des staphylocoques, mais comme des débris de chromatine phagocytés par les Amibes. Un stade plus précoce de l'évolution de ces Rhizopodes serait représenté par des éléments spéciaux, les cellules botryomycogènes, à protoplasma hyalin et à noyau arrondi ou étoilé. Les cellules botryomycogènes se retrouveraient dans la botryomycose humaine, mais non les agglomérations d'Amibes constituant les grains jaunes. Les arguments sur lesquels Letulle appuie sa conception sont d'ordre purement descriptif ; selon lui, les caractères cytologiques des cellules botryomycogènes rappellent ceux des Amibes que l'on rencontre communément dans le tube digestif de l'Homme.

A. Labbé [27], dans un cas de botryomycose humaine, a décrit des éléments qu'il considère de même comme des Amibes, et des diverses formes qu'il a observées, il croit pouvoir déduire le cycle évolutif de ces parasites. En fait les éléments qu'il décrit ne paraissent pas avoir été rencontrés par d'autres observateurs (1), et pas plus que Letulle, Labbé n'a tenté la démonstration expérimentale de ses vues. La culture et l'inoculation de ces Amibes hypothétiques restent jusqu'ici à réaliser.

Pour décider entre ces diverses hypothèses, uniquement basées sur l'observation, il fallait reprendre la question du point de vue expérimental : isoler à l'état de cultures pures les divers microorganismes végétant dans les tumeurs botryomycotiques, et étudier leur action pathogène en les inoculant aux animaux, dans des conditions aussi voisines que possible de celles où évolue la maladie spontanée. C'est cette étude expérimentale qui a été tentée dans le présent travail.

(1) Labbé attribue la rareté apparente des Amibes à leur stricte localisation dans le pédicelle de la tumeur ; ces éléments, lors de l'excision chirurgicale, seraient le plus souvent laissés dans la plaie et échapperaient ainsi à l'observation.

CHAPITRE II

BACTÉRIOLOGIE DE LA BOTRYOMYCOSE. BOTRYOCOQUE ET STAPHYLOCOQUE

On a vu que les essais répétés d'isolement tentés par divers auteurs à partir de botryomycomes vrais avaient donné lieu régulièrement à des cultures généralement pures d'un organisme offrant tous les caractères du staphylocoque. J'ai constamment retrouvé ce même résultat dans les ensemencements de produits botryomycotiques effectués au cours de ces recherches. Un premier isolement fut fait à partir d'un volumineux champignon de castration, qui offrait cette particularité de renfermer, au centre des trajets fistuleux dont il était criblé, des crins autour desquels étaient accumulés de nombreux grains jaunes botryomycotiques. Le pus, prélevé à la pipette dans la profondeur des foyers, après brûlure de la surface de la tumeur, a été ensemencé sur des milieux nutritifs variés (gélose ordinaire, gélatine, pomme de terre, gélose au sang, gélose glucosée). De nombreux ensemencements furent faits par la suite, dans les mêmes conditions, à partir de tumeurs botryomycotiques de sièges variés (1). Dans tous les cas, le résultat a été le même, et il s'est développé sur tous les milieux de culture une seule et même espèce bactérienne, répondant aux caractères suivants :

1° Aspect des cultures :

Bouillon ordinaire. — Au bout de vingt-quatre heures à 37°, on observe un trouble uniforme ; vers le deuxième jour appa-

(1) La plupart des pièces utilisées au cours de ces recherches sont dues à l'obligeance de M. Césari.

raissent des flocons qui tombent au fond du tube où ils forment un dépôt glaireux, filant.

Gélose ordinaire. — Après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37° apparaissent des colonies rondes, surélevées, à bords nets, opaques, grasses, d'un blanc grisâtre, qui se teintent peu à peu en jaune doré intense, surtout quand on conserve les cultures à la température du laboratoire.

Pomme de terre. — La culture qui se développe le long de la strie d'ensemencement présente dès son apparition une belle coloration jaune. Sur gélose à la pomme de terre, la coloration jaune apparaît de même d'emblée.

Gélatine. — En gélatine ensemencée par piqûre, on voit d'abord apparaître, le long de la strie d'ensemencement, une ligne plus ou moins colorée ; au bout de trois ou quatre jours, la liquéfaction commence à s'opérer, de haut en bas : elle peut être complète ou incomplète ; dans ce dernier cas, un tiers environ de la gélatine ensemencée passe seul à l'état liquide.

Le microbe peut être cultivé en anaérobie, dans la gélose Veillon.

2° Aspect microscopique. — Les bactéries prélevées dans les cultures se présentent toujours sous forme de *cocci* de très petite taille, constituant des amas en grappe de raisin, parfois de courtes chaînettes.

Les *cocci* prennent très bien le Gram. Colorés par la thionine ou le bleu de méthylène, ils présentent souvent un espace clair central.

*
* *

Le microbe ainsi isolé, à plusieurs reprises, de lésions botryomycotiques répond bien, par l'ensemble de ses caractères, à la bactérie désignée par la plupart des auteurs sous le nom de botryocoque. On voit, d'après la description qui précède, que les caractères du botryocoque sont exactement superposables à ceux du Staphylocoque doré ; ni l'aspect macroscopique des colonies, ni la morphologie des éléments ne permettent d'éta-

blir de distinction fondée entre les deux microorganismes. La liquéfaction en tulipe de la gélatine, qui a été donnée comme trait distinctif du botryocoque, s'observe bien quelquefois, mais elle n'a aucune constance, et est d'ailleurs essentiellement transitoire, aboutissant toujours en définitive à la production d'un entonnoir de forme conique. Quant à l'influence de la température sur la production du pigment, il est vrai qu'elle s'exerce, mais ni plus ni moins que chez les autres bactéries pigmentées ; il s'agit là d'une propriété générale, et on n'est nullement en droit d'y voir un caractère spécial au botryocoque.

Dans un travail encore inédit, J. Dumas a fait une étude comparative approfondie d'un grand nombre de races de Staphylocoques dorés, isolées soit de lésions botryomycotiques, soit de suppurations humaines ou animales variées. Une telle étude étant de nature à éclairer la question de la spécificité du botryocoque, je résume ici, d'après les notes d'expériences que M. Dumas a bien voulu me communiquer, les conclusions essentielles auxquelles il a abouti sur ce point particulier.

Les recherches de Dumas ont porté sur dix-sept échantillons de staphylocoques dont six provenaient de lésions botryomycotiques. Les critériums choisis pour la comparaison de ces races étaient les suivants : la forme, les caractères des cultures, la fonction gélatinolytique, la fonction saccharolytique, la production d'hémolysine, la virulence pour la souris.

En ce qui concerne la forme dans les cultures, aucune différence n'a été observée entre les staphylocoques isolés de lésions botryomycotiques et ceux d'autres provenances. Au point de vue de l'intensité de la pigmentation, les échantillons étudiés se classent en trois catégories, suivant qu'ils donnent une couleur jaune doré très vive, une couleur moins intense ou enfin une teinte plus faible encore ou plus terne ; dans chaque catégorie se rangent indistinctement des botryocoques et des staphylocoques.

Le pouvoir gélatinolytique s'est montré constant, mais d'intensité variable chez tous les staphylocoques isolés : neuf échan-

tillons, dont deux botryocoques, ont liquéfié en huit jours tout le tube de gélatine ; huit échantillons, dont quatre botryocoques, ont seulement liquéfié le tiers du tube dans le même temps. On voit par là qu'on a eu tort de dire que les staphylocoques isolés de lésions botryomycotiques se caractérisaient par une faible liquéfaction de la gélatine.

La même constance a été observée dans la fonction saccharolytique. Tous les échantillons ont fermenté la mannite, le glucose, le saccharose, le maltose, le lactose. Quant aux deux derniers caractères choisis comme critériums (production d'hémolysine et virulence pour la souris), ils ne se sont pas montrés avec la même intensité chez toutes les races isolées, mais il s'est toujours trouvé des staphylocoques et des botryocoques les présentant au même degré.

Ces résultats ne laissent subsister aucune raison valable de faire du botryocoque une espèce distincte ; ni par leurs caractères de culture, ni par leurs propriétés biologiques, les staphylocoques de botryomycose ne se distinguent en aucune manière des autres. On verra plus loin (chapitres III et V, expériences V, VI et VII) que la propriété de donner des grains *in vivo* dans certaines conditions n'est pas non plus particulière au seul botryocoque. Ce caractère n'autorise donc pas mieux que les autres à élever au rang d'espèce les staphylocoques d'origine botryomycotique.

CHAPITRE III

INOCULATIONS EXPÉRIMENTALES

Les résultats exposés dans le chapitre précédent, montrant la présence constante du Staphylocoque doré dans les produits botryomycotiques, encourageaient à étudier de plus près le rôle joué par ce microorganisme dans l'étiologie de la botryomycose. Il est vrai qu'à de rares exceptions près [**44**, **24**], les inoculations sous-cutanées de cultures pures de botryocoques, déjà tentées maintes fois, avaient donné lieu régulièrement à des suppurations banales, sans analogie avec la botryomycose. Mais de tels résultats pouvaient tenir au mode d'inoculation adopté dans les essais de ce genre, plus qu'à la nature même des germes inoculés. Une maladie telle que la botryomycose, singulière par la marche et la structure de ses lésions, devait vraisemblablement, si elle était causée par un parasite aussi banal que le staphylocoque, prendre du moins naissance et évoluer à la faveur de circonstances très particulières, qu'il importait d'analyser, et autant que possible de reproduire dans les essais expérimentaux.

On a vu précédemment que les champignons de castration renfermaient parfois des corps étrangers tels que des crins. Or on sait que l'adaptation de certains microbes à l'organisme des animaux peut être favorisée par la présence d'un corps étranger au point d'inoculation. L'action de débris inertes variés a été invoquée pour éclairer l'étiologie de diverses maladies infectieuses, et notamment de l'actinomycose, qui offre des analo-

gies cliniques manifestes avec la botryomycose. Il était dès lors permis de supposer que dans cette dernière maladie, des corps étrangers étaient de même capables de favoriser le développement du germe pathogène. Partant de là, on pouvait se proposer de reproduire expérimentalement la botryomycose en inoculant aux animaux des corps étrangers chargés de produits botryomycotiques. Ce fut l'objet des expériences suivantes, où les inoculations sur corps étrangers ont été faites dans le testicule, la région spermatique paraissant être un terrain d'élection pour les tumeurs botryomycotiques.

Expérience I

Un essai préliminaire a consisté dans l'inoculation au cobaye de pus botryomycotique. Un fil de coton, préalablement stérilisé, est souillé de pus provenant d'un champignon de castration, puis introduit et laissé à demeure dans le testicule d'un cobaye. L'animal succombe vingt jours après l'inoculation Le testicule inoculé est induré, adhérent à la peau, et ne rentre plus dans l'abdomen : le scrotum présente une ulcération profonde, d'où s'échappe un pus formé de polynucléaires, dont la plupart renferment en grand nombre des *cocci* prenant le Gram. Dans les coupes du testicule inoculé, on voit, au centre d'un nodule inflammatoire, un grain botryomycotique caractéristique, formé, de même que dans la botryomycose spontanée, par un amas de *cocci* entouré d'une coque réfringente ; mais ici, la coque périphérique, au lieu d'être homogène comme chez le cheval, est en réalité formée d'une palissade de massues, identiques, par leur forme, leur disposition et leurs réactions tinctoriales, aux massues des grains jaunes d'actinomycose (1).

Cette expérience montrait qu'il était possible, en inoculant sur corps étranger du pus botryomycotique dans le testicule du cobaye, de provoquer la formation de grains comparables à ceux de la botryomycose spontanée du cheval, bien qu'ayant une structure un peu plus complexe. Un tel résultat était favo-

(1) La même structure s'est retrouvée dans tous les grains botryomycotiques obtenus chez le cobaye au cours des expériences énumérées dans le présent chapitre. Le lecteur trouvera une description synthétique de ces formations dans le chapitre IV.

rable à l'hypothèse du rôle des corps étrangers dans l'étiologie de la maladie, mais n'apportait aucune certitude sur la nature de l'agent infectieux en cause. A côté des botryocoques qui s'étaient développés dans les cultures, le pus inoculé pouvait en effet renfermer d'autres microorganismes, incapables de développement autonome sur les milieux employés pour l'isolement. Aussi fallait-il, pour pousser plus loin la démonstration, reprendre l'expérience en inoculant non plus du pus, mais des cultures pures de botryocoque (1).

Expérience II

Les cultures de botryocoque utilisées pour cette série d'expériences proviennent de l'ensemencement du pus prélevé dans le testicule du cobaye de l'expérience I. Les cultures obtenues à partir de ce pus paraissaient pures d'emblée, mais pour plus de sûreté, elles n'ont été inoculées qu'après avoir subi cinq séparations successives sur gélose. Les botryocoques ainsi développés en culture, après passage par

(1) En présence du résultat positif de l'expérience I, on pouvait se demander si la même méthode d'inoculation ne serait pas applicable à divers microorganismes réputés difficiles à inoculer. Avec M. Pinoy [40], nous en avons réalisé l'application dans le cas de la sporotrichose. Des crins stérilisés furent souillés de pus sporotrichosique et passés dans le testicule de trois cobayes préalablement endormis à l'éther. Un des cobayes mourut accidentellement quelques jours après l'inoculation ; les deux autres furent sacrifiés l'un au bout de deux mois, l'autre au bout de deux mois et demi. Chez les deux cobayes, on constata autour du crin l'existence de petits abcès intratesticulaires. L'examen microscopique montra, au milieu de leucocytes dégénérés, de nombreuses conidies-levures de *Sporotrichum*. Or le pus qui avait servi à l'inoculation, examiné au microscope, n'avait montré aucune forme pouvant se rattacher au parasite, et, ensemencé abondamment sur trois tubes de gélose de Sabouraud, il avait donné naissance à une unique colonie de *Sporotrichum*. Il renfermait donc très peu de germes. Si l'on songe que l'inoculation directe de pus sporotrichosique pratiquée suivant les techniques usuelles ne donne de résultats positifs, et cela seulement chez le rat et la souris, que si le pus est très riche en parasites, on ne pourra guère douter que le mode d'inoculation n'ait eu dans notre expérience une action favorisante sur la pullulation du *Sporotrichum*. Ce procédé d'inoculation au cobaye pourrait être employé dans des cas de diagnostic de sporotrichose douteux, et rendre peut-être les mêmes services que l'inoculation des crachats ou du pus au cobaye dans la tuberculose.

l'organisme du cobaye, sont identiques, par leurs caractères morphologiques et culturaux, aux botryocoques isolés directement du pus du cheval.

Technique. — Le cobaye étant endormi à l'éther, on introduit dans l'un de ses testicules, au moyen d'une aiguille courbe, un crin de cheval préalablement stérilisé à l'autoclave, puis souillé avec une culture de vingt-quatre heures, en bouillon, de botryocoque. (On a soin, avant l'opération, de stériliser la peau au thermocautère aux points par où l'aiguille doit pénétrer et ressortir). Le crin étant en place, on le coupe au ras de la peau. Pour éviter qu'il ne soit expulsé, il suffit de faire une pointe de feu sur chacune de ses extrémités.

Cinq cobayes, inoculés de la sorte, ont été sacrifiés au bout de temps qui ont varié de huit jours à quatre mois après l'inoculation. La réaction clinique s'est montrée à peu de chose près la même chez les cinq animaux. Dès le lendemain de l'inoculation, le testicule est fortement tuméfié, le scrotum épaissi. La tuméfaction s'accentue dans les jours qui suivent ; pourtant le testicule reste mobile et peut rentrer dans l'abdomen.

Au bout d'un temps variable (quatre à huit jours environ), le testicule contracte des adhérences avec les plans superficiels. Il devient dès lors impossible de le faire rentrer dans l'abdomen. En même temps la tuméfaction diminue, et le testicule s'atrophie progressivement ; il reste pourtant induré en certaines de ses régions, si bien qu'après quelques jours, sa surface apparaît irrégulièrement bosselée à la palpation. Aucun des cobayes de cette série d'expériences n'a présenté d'ulcération du scrotum.

A l'autopsie, on constate l'épaississement du *musculus testis*, qui est congestionné et adhérent au testicule. Dans le parenchyme testiculaire, on trouve plusieurs noyaux indurés, jaunâtres, souvent confluents, de volume variable, mais généralement assez gros, si bien que leur ensemble peut représenter au moins la moitié du testicule et de l'épididyme.

Chez les cinq cobayes, l'examen microscopique des coupes des testicules inoculés montre l'existence, à l'intérieur des foyers inflammatoires, de grains botryomycotiques, constitués,

comme celui de l'expérience I, par des massues périphériques et des *cocci* centraux (fig. 2 de la planche). Mais ces grains sont ici en nombre très considérable : à un faible grossissement il n'est pas rare qu'un même champ microscopique en renferme plusieurs. Huit jours après l'inoculation, on peut voir déjà des grains en voie de formation, avec quelques massues bien nettes. Au bout de seize jours, les grains sont bien développés, et la différenciation des massues est parfaite.

Un résultat aussi constant, obtenu après inoculation de cultures pures, ne pouvait laisser de doute sur le rôle du botryocoque, et démontrait que ce microorganisme était bien l'agent infectieux de la botryomycose. Il restait à analyser les conditions de l'expérience, afin d'élucider le mécanisme d'action du corps étranger, dont l'emploi avait rendu possible la reproduction expérimentale de la maladie.

Il convient tout d'abord de remarquer que l'inoculation, telle qu'elle avait été pratiquée, n'avait permis d'introduire dans l'organisme du cobaye qu'un nombre de germes relativement très minime. Les crins se laissent en effet difficilement mouiller par les liquides aqueux ; retirés du bouillon chargé de microbes où ils ont été immergés, ils en retiennent à peine quelques gouttelettes imperceptibles. De plus, au moment même de l'inoculation, le crin, en pénétrant sous la peau, s'essuie sur les bords de l'orifice cutané qui lui a livré passage. Si bien qu'en définitive bien peu de germes doivent arriver à pénétrer à l'intérieur du tissu testiculaire.

On pouvait se demander si le résultat positif de l'expérience ne venait pas précisément de ce que l'on avait inoculé une dose minime de germes. Lorsqu'en effet on injecte sous la peau d'un cobaye une dose relativement considérable de botryocoques, par exemple un centimètre cube de culture en bouillon, il se manifeste une réaction extrêmement vive et rapide ; sous l'action toxique des bactéries, il se produit une nécrose en masse de la région environnante, aboutissant à la formation d'une eschare étendue. Une réaction aussi brutale est sans doute peu favorable à l'établissement d'une maladie chronique telle que la

botryomycose. Si au contraire on inocule un très petit nombre de botryocoques, les substances toxiques qu'ils sécrètent, étant beaucoup moins abondantes, doivent avoir une action beaucoup plus ménagée et plus lente, condition assurément plus propice à l'évolution progressive de ces bactéries et à la production des formes hautement différenciées qui caractérisent les grains botryomycotiques.

Si une telle interprétation est exacte, les mêmes résultats que l'on obtient en inoculant le virus sur crin de cheval doivent pouvoir être réalisés par l'inoculation de doses très faibles de microbes. C'est ce qui arrive en effet, et ce qui ressort de l'expérience suivante, où l'inoculation dans le testicule de cultures très diluées de botryocoques a provoqué la formation de nombreux grains botryomycotiques.

Expérience III

Cinq cobayes reçoivent respectivement, en injection intratesticulaire, sans corps étranger, des doses de 0 cgr. 1, 0 cgr. 01, 0 cgr. 001, 0 cgr. 0001, 0 cgr. 00001 de botryocoques de même origine que ceux de l'expérience II. Chacune de ces doses est inoculée à l'état d'émulsion dans un quart de centimètre cube d'eau physiologique.

Pour préparer les émulsions titrées de staphylocoques, on délaye dans un volume connu d'eau physiologique (soit 5 cc.), un poids connu de germes (1) (soit 2 cgr.), tel, que 1/4 de cc. de l'émulsion ainsi préparée renferme 0 cgr. 1 de microbes. Il suffit ensuite de faire, à partir de cette émulsion initiale, une série de dilutions de dix en dix fois plus étendues pour réaliser, toujours sous le même volume, des sous-multiples de plus en plus petits de cette dose initiale.

Les cobayes ainsi inoculés ont réagi cliniquement de la même manière que ceux de l'expérience précédente : tout au début le testicule se tuméfie. Il s'atrophie ensuite, tout en restant induré en certains points ; il contracte en même temps, avec les tissus environnants, des adhérences qui le fixent dans le scrotum.

(1) Les germes sont prélevés sur une culture de 24 heures en gélose, et pesés à l'état frais.

Les trois cobayes qui avaient reçu 0 cgr. 001, 0 cgr. 01, et 0 cgr. 1 de germes furent sacrifiés respectivement dix-sept, vingt-six et cinquante-quatre jours après l'inoculation. Chez ces trois animaux, le testicule inoculé présentait des nodules inflammatoires volumineux, à l'intérieur desquels l'examen microscopique a décelé l'existence de nombreux grains à massues, de structure typique. Chez le cobaye dont on avait laissé évoluer les lésions pendant le plus longtemps, les grains étaient même bien visibles à l'œil nu.

Par contre, chez les deux cobayes qui avaient reçu 0 cgr. 0001 et 0 cgr. 00001 de germes, l'examen microscopique des testicules n'a pas décelé la présence de grains. Ces deux animaux ont été sacrifiés peu de temps après l'inoculation (dix jours pour le premier, treize jours pour le second).

Des inoculations de staphylocoques provenant d'autres cas de botryomycose furent faites à diverses reprises dans le testicule du cobaye, et donnèrent constamment les mêmes résultats. Devait-on en conclure que le testicule fût le seul organe permettant le développement des grains staphylococciques chez le cobaye ? L'expérience suivante montre qu'il n'en est pas ainsi, mais que les grains peuvent également se produire dans le rein, à la suite d'inoculations intra-veineuses de botryocoques.

Expérience IV

Un cobaye reçoit, dans la veine jugulaire, 0 cgr. 1 de botryocoques. Sept jours après l'inoculation, l'animal était atteint de paraplégie ; il succombait le lendemain. A l'autopsie, les reins présentaient de petits foyers blanc jaunâtre ; l'examen histologique a montré l'existence, à l'intérieur de ces organes, de grains staphylococciques à massues, bien caractérisés, situés au centre de nodules inflammatoires comparables aux nodules botryomycotiques.

Le rôle pathogène du botryocoque étant ainsi bien établi, il restait à examiner si la propriété de donner des grains *in vivo* était particulière à cette variété microbienne, ou si elle pouvait se rencontrer chez des staphylocoques d'autre origine. Les

expériences suivantes, consistant en inoculations au cobaye de staphylocoques dorés ne provenant pas de cas de botryomycose, ont eu pour objet de résoudre cette question.

Expérience V

Deux cobayes reçoivent dans le testicule un crin trempé dans une culture d'un staphylocoque doré, isolé par M. Borrel d'une suppuration cutanée chez l'homme. Ce staphylocoque ne différait par aucun de ses caractères du botryocoque qui avait servi pour les premières expériences.

L'un des cobayes est mort accidentellement au bout de quelques jours. Le second, sacrifié après deux mois, présentait une réaction inflammatoire très discrète, bien localisée à l'entour du crin. Ce nodule, malgré son faible développement, renfermait de nombreux grains, à massues particulièrement bien différenciées (fig. 5 de la planche).

Expérience VI

Trois cobayes reçoivent en injection intra-veineuse chacun 0 cgr. 5 de staphylocoques isolés d'une mammite de la chèvre. Ils succombent tous trois le cinquième jour. A l'autopsie, on trouve dans les reins de nombreux foyers suppuratifs, dont certains renferment des grains staphylococciques de structure typique, avec *cocci* centraux, et massues périphériques.

Le fait étant bien établi que des staphylocoques de provenances diverses sont capables de donner *in vivo* des grains comparables aux grains d'actinomycose, il fallait en dernier lieu rechercher si de telles productions représentaient bien des formes vivantes de ces parasites, ou si elles ne devaient pas plutôt être considérées comme des corps de dégénérescence, développés aux dépens de microbes morts. Or, des inoculations intratesticulaires de staphylocoques tués par des réactifs variés (alcool-éther, alcool-acétone), n'ont jamais donné lieu à la formation de grains. Il apparaît donc bien que les formes actinomycotiques du staphylocoque ne peuvent se développer qu'aux

dépens de microbes vivants. D'ailleurs l'épreuve suivante, dont l'idée est due à M. Borrel, montre qu'il en est de même pour les grains botryomycotiques du cheval :

Une tumeur botryomycotique récemment prélevée est placée à l'étuve à 37°. Après que la pièce a séjourné quelques jours à cette température, on en découpe des fragments, qui sont fixés dans le réactif de Bouin. L'examen des coupes de ces fragments montre que les grains qu'ils contiennent ont été le siège d'une prolifération bactérienne abondante ; au lieu des *cocci* de grande taille qui occupent d'ordinaire l'intérieur des grains, on y voit en effet une multitude de bactéries minuscules, évidemment en voie de multiplication active. Il y a eu, pendant le séjour à l'étuve, culture des staphylocoques à l'intérieur des grains, qui par conséquent ne peuvent être que des éléments vivants.

Si l'inoculation au cobaye de staphylocoques, dans les conditions précisées ci-dessus, donne lieu assez régulièrement à la production de grains, il faut bien dire que ce résultat n'est pas absolument constant. En fait, dans plusieurs expériences, l'inoculation intraveineuse ou intratesticulaire de staphylocoques a seulement amené la formation de suppurations banales, dans lesquelles les bactéries ne présentaient pas le mode de groupement si caractéristique des grains radiés. Le lecteur trouvera plus loin (chap. V), un essai d'interprétation de ces résultats négatifs, basé sur une nouvelle série d'expériences.

CHAPITRE IV

MORPHOLOGIE DES GRAINS STAPHYLOCOCCIQUES. LES FORMES ACTINOMYCOTIQUES DU STAPHYLOCOQUE

Les lésions de botryomycose chez le cobaye, comme on l'a vu par les descriptions du chapitre précédent, se présentent sous forme de noyaux durs, d'aspect bosselé et de couleur blanc jaunâtre qui occupent une plus ou moins grande partie du testicule. Ces noyaux sont l'équivalent exact des volumineuses tumeurs botryomycotiques du cheval. Vus en coupe au microscope, ils apparaissent en effet constitués par des nodules inflammatoires inclus dans des alvéoles fibreuses, et identiques, par leur structure, aux nodules de la botryomycose spontanée. Ici comme chez le cheval, le centre du nodule est occupé par un grain, autour duquel s'accumulent des leucocytes polynucléaires. Les mononucléaires, rares aux environs immédiats du parasite, deviennent de plus en plus nombreux vers la périphérie. Les travées conjonctives, formées dans leur partie axiale à peu près exclusivement de fibres, s'infiltrent latéralement de cellules fusiformes, qui réalisent une transition insensible avec le contenu cellulaire des nodules.

Les grains sont de dimensions très diverses (leur diamètre étant le plus généralement compris entre 90 et 270 μ). Les plus volumineux sont visibles à l'œil nu. On peut les examiner au microscope dans les frottis de pus, mais l'étude des coupes

histologiques permet d'en analyser beaucoup plus exactement la structure.

Leur forme générale rappelle celle des grains de la botryomycose spontanée. Les plus petits sont sphériques, les plus volumineux, mûriformes. Tous comprennent deux zones bien distinctes : une zone centrale, constituée par des *cocci*, une zone périphérique, formée de massues (fig. 2, 5 et 6 de la planche). Ils ont donc la structure de grains d'actinomycose, avec cette seule différence que la région centrale, au lieu d'être remplie par un feutrage de filaments ramifiés, est constituée par un amas de *cocci*.

Les *cocci* de la zone centrale sont identiques, par leur taille, leur forme et leurs réactions colorantes, aux botryocoques ou aux staphylocoques qui ont servi pour l'inoculation. Comme eux, ils se colorent par les couleurs basiques d'aniline et prennent le Gram. Ils sont groupés en une colonie unique dans les grains sphériques ou simples, tandis que dans les grains mûriformes ou composés, ils se répartissent en plusieurs colonies, parfois bien distinctes les unes des autres, mais plus souvent largement confluentes. Ils sont cimentés par une gangue amorphe, réfringente, se colorant fortement par les couleurs acides d'aniline, et plus généralement par les colorants du tissu conjonctif (éosine, orange, picro-indigo-carmin, vert-lumière, safran, etc.). L'aspect de la substance interstitielle est tantôt hyalin, tantôt granuleux ; on y trouve par places des *cocci* bien reconnaissables, mais ayant perdu leurs affinités pour les colorants basiques.

La gangue paraît avoir une consistance dure, cornée : elle se craquèle sous le rasoir, mais peut aussi présenter des fissures naturelles, infiltrées de leucocytes.

Les massues qui constituent la couche périphérique sont rangées radiairement autour du noyau central de manière à lui former une couronne régulière et à donner à l'ensemble du grain une symétrie rayonnée. Ce sont des éléments allongés, renflés à leur extrémité externe, effilés du côté de leur terminaison profonde, qui est dirigée vers le centre du grain et se confond

avec la gangue interstitielle. Leurs dimensions sont de même ordre que celles des massues de l'actinomycose (3-4 μ de largeur en moyenne pour une longueur de 8 à 12 μ) ; elles sont d'ailleurs assez variables, et d'une manière générale d'autant plus considérables que le grain évolue depuis plus longtemps.

Les massues se colorent, comme la gangue qui cimente les *cocci*, ou encore comme la coque périphérique des grains botryomycotiques du cheval, par les couleurs acides d'aniline (telles que l'éosine ou l'orange), par le vert-lumière, par le picro-indigo-carmin. Comme les massues actinomycotiques, elles sont acido-résistantes. Le safran, employé selon la technique de Masson, leur donne une belle teinte jaune. Elles ne prennent pas le Gram; il arrive pourtant dans certains cas qu'après l'emploi de la méthode de Gram elles restent partiellement teintées en violet pâle. La thionine phéniquée les colore en bleu, alors qu'elle colore les *cocci* en rouge violacé.

Les procédés de coloration qui différencient le mieux les divers éléments constitutifs des grains sont les suivants :

1° *Méthode de Dominici :* colorer deux heures dans un mélange à parties égales d'une solution aqueuse d'éosine à 2 p. 100 et d'une solution aqueuse d'orange G à 2 p. 100. Laver rapidement à l'eau distillée, puis colorer une minute dans une solution aqueuse de bleu de toluidine à 1 p. 100. Différencier à l'alcool absolu, en surveillant la décoloration au microscope. Les massues sont colorées en orangé, les *cocci* en bleu.

2° *Triple coloration* : colorer vingt minutes dans le carmin chlorhydrique, laver à l'alcool, puis à l'eau. Faire ensuite le Gram selon le procédé de Nicolle (décoloration par l'alcool-acétone). Colorer une minute par le picro-indigo-carmin ou par une solution à 2 p. 100 de vert lumière additionnée d'un quart d'une solution concentrée d'acide picrique. Les massues sont vertes, les *cocci* violets.

3° La méthode suivante, d'usage courant pour la coloration des grains d'actinomycose, donne aussi d'excellents résultats dans le cas des grains staphylococciques, et met bien en évidence les propriétés acido-résistantes des massues :

a) Colorer une à deux heures à chaud (55°) dans une solution de fuchsine phéniquée de Ziehl.

b) Laver à l'eau, faire agir pendant quelques secondes une solution

de chlorhydrate d'aniline à 2 p. 100, puis décolorer par l'alcool absolu. Les massues seules restent colorées.

c) Faire un Gram pour colorer les *cocci*.

d) Colorer le fond par le picro-indigo-carmin

Les massues sont rouge vif, les *cocci* violets.

Dans tous les cas, les matériaux ont été fixés au Bouin, et les coupes faites au 1/150 de mm., après enrobage des pièces dans la paraffine.

Quelle que soit la méthode de coloration employée, les massues apparaissent toujours très réfringentes. Leur structure n'est pas homogène ; elles sont en effet formées d'une superposition de couches concentriques emboîtées les unes dans les autres. Cette structure stratifiée est également nette, que les massues soient coupées longitudinalement ou transversalement (fig. 5 de la planche). Elle est surtout manifeste dans les massues de grande taille, où l'on peut voir deux et même trois couches disposées autour d'un axe grêle, qui ne paraît pas être de même nature que le reste de l'élément, car il garde souvent une légère affinité pour les colorants basiques.

Les massues peuvent avoir une surface lisse. Mais plus souvent elles sont hérissées de piquants ou d'écailles régulièrement insérés sur tout leur pourtour, et qui leur donnent un aspect échinulé ou barbelé (fig. 3 de la planche). Les piquants sont insérés obliquement, de telle sorte que leur pointe est dirigée vers l'extrémité renflée de la massue. Ces ornements apparaissent d'autant mieux différenciés qu'on les observe sur des grains plus âgés. Chez des cobayes sacrifiés plusieurs mois après l'inoculation, ils atteignent un degré de complication extrême, d'où résultent, chez les éléments qui en sont porteurs, des aspects aussi délicats que variés. Parmi ces massues à différenciation très marquée, certaines ont une forme allongée et grêle ; elles peuvent être alors ramifiées, chaque rameau étant formé d'une série d'articles successifs (fig. 3 de la planche). D'autres sont de forme plus ramassée, et ornées de longues écailles recourbées et épineuses, qui leur donnent l'aspect de capitules de Chardon ; chez les massues de ce type, la struc-

ture concentrique est particulièrement bien visible, les couches dont elles sont formées se colorant de manières diverses.

Il peut arriver que les massues soient plus ou moins concrescentes, et même tout à fait indistinctes ; l'enveloppe extérieure du grain est alors homogène et amorphe, comme dans la botryomycose spontanée. Dans les grains normaux, le revêtement de massues peut manquer par endroits, et être remplacé par une paroi indivise pareille à l'enveloppe kystique des grains botryomycotiques du cheval, mais souvent pourvue de piquants semblables à ceux qui ornent les massues bien individualisées.

Les grains présentent souvent une sorte de hile, au niveau duquel les massues font défaut, et par où les leucocytes peuvent pénétrer à l'intérieur de la colonie.

*
* *

L'existence de formes en massues dans des productions ne renfermant pas d'autres microorganismes que des staphylocoques soulève quelques difficultés d'interprétation. Il peut sembler *a priori* peu vraisemblable que des *cocci* de taille minime soient capables de donner naissance à ces volumineux éléments, qui en diffèrent si profondément par leurs dimensions, leur forme et leur structure. Si bien que l'on pourrait à première vue douter si les massues, au lieu de provenir d'une transformation des staphylocoques, ne représenteraient pas des formes de dégénérescence de certaines cellules du cobaye.

Parmi les leucocytes qui avoisinent immédiatement les grains, il en est dont les noyaux subissent la déformation en « larmes bataviques », et prennent dès lors des aspects qui ne sont pas sans analogie avec ceux des massues. Pourtant, même dans les cas où cette analogie morphologique existe, toute confusion est impossible entre les noyaux leucocytaires, teintés par les colorants nucléaires, et les massues, fortement acidophiles et acido-résistantes. D'autre part, l'hypothèse qui attribuerait aux massues une origine cellulaire rendrait compte difficilement de

la structure concentrique de ces éléments et de la présence d'ornements à leur surface.

Ces particularités de structure s'expliquent au contraire aisément, si l'on admet que les massues résultent de la différenciation des staphylocoques périphériques des grains. Il n'en reste pas moins difficile de comprendre comment une évolution aboutissant à une transformation si complète a pu se produire chez ces bactéries. L'étude comparative des massues de l'actinomycose, et d'autre part l'examen de grains staphylococciques jeunes, en voie de formation, sont de nature à éclairer ce problème.

Les massues qui entourent les grains actinomycotiques sont en effet exactement comparables aux massues de la botryomycose expérimentale (fig. 4 de la planche). Il s'agit dans l'un et l'autre cas de formations à peu de chose près identiques, tant par leur forme générale et leur disposition que par leur structure et leurs réactions colorantes (1). On ne peut guère douter que des éléments si semblables ne soient de même nature et n'aient la même signification, et toute interprétation capable d'expliquer la formation des uns devra nécessairement être applicable aux autres. Or nous avons des notions assez précises sur l'évolution des massues actinomycotiques.

Les formes actinomycotiques, caractérisées par l'existence de grains entourés d'une couronne radiée de massues, se rencontrent communément chez des organismes filamenteux parasites appartenant aux genres *Nocardia* et *Cohnistreptothrix*. On les rencontre exceptionnellement chez les bacilles du type tuberculeux. Enfin, Lignières et Spitz [32] ont décrit des formes semblables dans l'actinobacillose, maladie bactérienne des Bovidés, dont Pinoy et Ravaut ont fait connaître récemment l'existence chez l'homme [41].

Il s'agit là d'organismes assez distants les uns des autres, mais qui pourtant appartiennent tous au groupe des bactéries.

(1) L'ornementation échinulée des massues, qui est la règle dans les grains staphylococciques, peut aussi se rencontrer, avec les mêmes caractères, dans les grains actinomycotiques (fig. 4 de la planche).

Les *Nocardia* végètent, à l'état saprophyte, sous forme de filaments mycéliens ramifiés, capables de se fragmenter en spores bien individualisées et pourvues d'une membrane propre. Ce dernier caractère les avait fait longtemps ranger parmi les Mucédinées inférieures, mais ainsi que l'a montré Pinoy [**39**], la simplicité de leur structure cytologique les rattache indiscutablement aux bactéries. Les *Cohnistreptothrix*, organismes anaérobies, ne se distinguent des bactéries par aucun de leurs caractères ; ils doivent être rangés dans le groupe des bacilles capables de se ramifier, à côté du bacille diphtérique et du bacille tuberculeux. Le parasite de l'actinobacillose est un coccobacille ne prenant pas le Gram. Lignières et Spitz ont proposé de désigner sous le nom général d'actinophytes tous les organismes capables d'adopter le mode de végétation actinomycotique.

C'est chez les actinophytes filamenteux, du type *Nocardia* ou *Cohnistreptothrix*, que le mode de différenciation des massues apparaît le plus clairement. Ces microorganismes, parasites habituels de l'actinomycose, se développent dans l'organisme de leurs hôtes sous forme de pelotons serrés, formés par un enchevêtrement complexe de filaments ramifiés. De la périphérie du peloton, on voit se dégager, sous forme de courts bâtonnets radiés, les extrémités libres du mycélium. Dans les grains jeunes, ces filaments libres périphériques n'ont subi encore aucune différenciation ; tout au plus sont-ils renflés en forme de massues grêles, mais leurs réactions colorantes restent celles des filaments centraux ; comme eux, ils prennent le Gram.

Ce n'est que secondairement que les extrémités périphériques des filaments différencient une membrane de plus en plus épaisse, formée de couches concentriques de plus en plus nombreuses, et caractérisée par des affinités colorantes particulières, notamment par l'acido-résistance. Les massues ainsi formées, en même temps qu'elles s'épaississent par apposition de strates successives, s'imprègnent de sels minéraux. Mais au centre des massues même les mieux développées, on distingue

encore nettement, si la coupe est bien axiale, le filament primitif plus ou moins renflé et prenant le Gram.

Un tel processus de différenciation apparaît ici comme une conséquence de la vie parasitaire ; il est lié vraisemblablement à la réaction défensive des leucocytes et des humeurs qui s'accumulent autour du parasite. De telle sorte que l'on peut, avec Pinoy et Ravaut, considérer les massues actinomycotiques comme des productions mixtes, dépendant du parasite et de l'organisme. Ces auteurs [42] comparent très justement la formation des massues à celle des suçoirs de certains champignons parasites des plantes, tels que les Péronosporées. En effet, comme l'a montré Mangin, « la membrane de ces suçoirs qui pénètrent à l'intérieur d'une cellule végétale est constituée d'une part par la membrane du parasite, et d'autre part par une membrane sécrétée par la cellule végétale pour se protéger » (1).

C'est vraisemblablement un processus analogue qui aboutit à la différenciation des massues staphylococciques, dont la structure stratifiée est si remarquablement pareille à celle des massues actinomycotiques. Mais si l'on conçoit aisément que l'épaississement terminal d'un filament aboutisse à la formation d'éléments claviformes, on s'explique moins bien que ce même type d'éléments puisse dériver d'organismes sphériques tels que des staphylocoques.

L'actinobacille fournit à vrai dire un terme de passage entre les actinophytes filamenteux et les actinophytes à éléments sphériques représentés par les staphylocoques. En effet,

(1) Cette interprétation est très généralement admise. Pourtant Lignières et Spitz [32] en ont proposé une autre diamétralement opposée, qui depuis a été reprise par Brumpt [7]. Pour ces auteurs, les massues seraient constituées par du protoplasma microbien jeune, capable de bourgeonner, et servant à la nutrition des bactéries situées à l'intérieur du grain. Le filament prenant le Gram que l'on voit au centre des massues ne serait, selon Brumpt, qu'un artifice de préparation. Les faits relatifs à l'évolution des grains staphylococciques, qui montrent que les massues sont d'autant plus développées et d'autant mieux différenciées qu'elles appartiennent à des grains plus âgés, vont à l'encontre de cette manière de voir.

d'après Lignières et Spitz, « l'agent spécifique de l'actinobacillose se présente dans les cultures sous l'aspect d'un microbe à peine plus gros que celui du choléra des poules. Dans les premières cultures, il est nettement bacillaire ; plus tard, surtout sur gélose, il affecte la forme de coccobacille ou de diplocoque ». A l'état parasitaire, la forme coccobacillaire ou diplococcique existe seule, et Lignières et Spitz insistent sur ce fait que dans les lésions actinobacillaires, on ne rencontre jamais de formes filamenteuses. Sous sa forme courte, l'actinobacille est en réalité plus proche des *Coccus* que des bacilles, et si l'on ajoute qu'il prend facilement la coloration bipolaire, son analogie avec le staphylocoque devient encore plus frappante. En fait, sans la réaction de Gram, il serait dans plus d'un cas malaisé de distinguer les deux bactéries l'une de l'autre.

La propriété que possèdent les *Cohnistreptothrix* de fragmenter leur mycélium en éléments isodiamétriques, comparables à des microcoques, montre de même que la coupure entre les microbes filamenteux et sphériques n'est pas aussi irréductible qu'on pourrait *a priori* le croire.

Enfin, l'examen de grains en voie de formation fournit des renseignements assez précis sur la genèse des éléments en massues.

Si l'on examine des coupes de testicules de cobayes sacrifiés peu de jours après l'inoculation, à côté de grains ayant déjà des massues bien développées, on en voit d'autres dont la différenciation est moins avancée, et qui représentent manifestement des stades précoces de l'évolution du parasite.

Les grains que l'on peut vraisemblablement considérer comme les moins évolués sont formés par des amas compacts de staphylocoques de petite taille, tous semblables, doués d'affinité énergique pour les couleurs basiques, ayant, en un mot, tous les caractères de bactéries jeunes, en voie de prolifération active. Chacun de ces amas est enrobé dans une masse zoogléique de substance amorphe, acidophile, rappelant par ses réactions colorantes la substance qui forme les massues ou la coque des grains botryomycotiques du cheval, mais en différant

par son contour, qui est mal défini, et non point nettement arrêté. Il s'agit là, selon toute apparence, non d'une substance dure et cassante, comme celles dont les grains adultes sont formés, mais d'un produit demi-fluide, qui enrobe les colonies de staphylocoques et s'insinue entre les cellules du nodule inflammatoire (1).

A un stade plus avancé de l'évolution des grains, on voit se produire des modifications notables chez les bactéries qui les composent. Tandis que les staphylocoques qui occupent le centre de la colonie conservent leurs caractères primitifs et ne manifestent aucune tendance à la différenciation, les *cocci* périphériques accroissent leur volume dans des proportions considérables. Ces *cocci* de grande taille se colorent moins énergiquement que les autres par les couleurs basiques. Ils sont groupés en tétrades, elles-mêmes alignées en rangées longitudinales disposées radiairement et autour desquelles se dépose et se concrète une substance analogue à celle qui forme la gangue du grain (fig. 6 de la planche). Sur des coupes tangentielles de grains jeunes, on distingue très nettement les tétrades de staphylocoques, d'autant plus pâles qu'elles sont plus voisines de la périphérie, et entourées chacune d'une épaisse capsule gélifiée.

C'est dans ces rangées de staphylocoques groupés en tétrades

(1) Les réactions colorantes de cette substance sont précisément celles du tissu conjonctif, si bien que l'on peut se demander si elle ne proviendrait pas en partie d'une transformation de la substance collagène élaborée par les fibroblastes : on sait en effet que ces derniers éléments sont fort nombreux dans les tumeurs botryomycotiques, au voisinage des travées fibreuses qui délimitent les nodules ; il se peut qu'une partie du collagène qu'ils élaborent, au lieu de s'organiser en fibres, dégénère sous l'influence des produits toxiques sécrétés par les microbes, et se transforme en une substance demi-fluide qui imprégnerait la zooglée des colonies bactériennes. Des faits apparemment comparables de dégénérescence du collagène ont été observés par Sabrazès et Casaux [48]; dans un cas d'hyperplasie conjonctivale des paupières, consécutive à un trachome, ces auteurs décrivent des « masses colloïdes, globuleuses ou ovalaires, émanant du tissu conjonctif, dont les fibroblastes, au lieu d'élaborer un collagène normal, sécrètent de la matière colloïde plus fluide, qui se concrète en gros amas plus ou moins réfringents. ».

à capsule gélifiée qu'il convient de voir l'ébauche des massues, dont elles affectent déjà la forme générale et la disposition rayonnée. Il est facile de concevoir par quel processus les massues en dérivent : l'épaississement de la membrane des staphylocoques de chaque rangée radiale, déjà bien manifeste dans le stade précoce qui vient d'être décrit, se poursuit et se fait par dépôts successifs de produits sécrétés par le protoplasma bactérien, ainsi qu'en témoigne la structure stratifiée des massues adultes. En même temps que la membrane s'épaissit, elle s'imprègne de substances élaborées par les cellules de l'hôte, et s'incruste de sels minéraux. Le dernier terme de sa différenciation est marqué par l'apparition, à sa surface, des ornements complexes décrits plus haut. Quant au protoplasma des massues, il dégénère rapidement, tandis que la membrane se différencie ; ses vestiges sont représentés par l'axe légèrement basophile que l'on peut encore distinguer nettement dans les coupes de certaines massues.

Ainsi comprise, l'évolution des massues staphylococciques peut être rattachée au phénomène général de la différenciation cellulaire chez les végétaux. On sait que les cellules végétales ont la propriété de s'entourer d'une membrane rigide, formée de produits sécrétés par le protoplasma, et accroissant son épaisseur par dépôt de strates successives. Or chez beaucoup de cellules, et notamment chez celles qui sont destinées à former les tissus squelettiques des plantes, la différenciation consiste essentiellement en un épaississement considérable de la membrane, dont la structure concentrique peut dès lors devenir très nettement apparente. La membrane ainsi accrue peut conserver sa nature chimique primitive, mais souvent la cellulose dont elle est formée s'imprègne de sels minéraux et de substances organiques diverses, lignine ou subérine par exemple. De plus, l'épaississement de la paroi n'est généralement pas uniforme : les produits de sécrétion protoplasmique qui la constituent se déposent, en effet, plus abondamment en certaines régions qu'en d'autres ; il en résulte la formation à la surface de la membrane, d'ornements, de sculptures en creux ou en relief.

On retrouve l'équivalent de ces divers processus dans le cas particulier des bactéries actinophytes : épaississement de la membrane par sécrétion de strates concentriques, imprégnation de la paroi ainsi formée par des substances organiques et minérales, telles sont, là comme ailleurs, les étapes qui marquent les progrès de la différenciation. Dans beaucoup de cas, l'analogie se précise par le développement, à la surface des massues, d'une ornementation échinulée comparable à celle des spores ou des grains de pollen d'un grand nombre de plantes.

Ainsi, les lois qui règlent la différenciation cellulaire atteignent un haut degré de généralité, puisqu'elles restent les mêmes, dans ce qu'elles ont d'essentiel, chez les représentants les plus divers du monde végétal, aussi bien chez les bactéries, qui sont les plus simples des Thallophytes, que chez les plantes vasculaires les plus élevées en organisation.

CHAPITRE V

FACTEURS DE LA DIFFÉRENCIATION CHEZ LES BACTÉRIES. — CONCLUSION

La complexité des formes actinophytiques du staphylocoque contraste avec la simplicité d'organisation qui, en règle générale, caractérise les bactéries. Un grain staphylococcique peut être en effet considéré comme un véritable organisme pluricellulaire bien individualisé, et comprenant deux « tissus » distincts : la masse de *cocci* qui en occupe l'intérieur, formée d'éléments bactériens indifférenciés et capables de multiplication, autrement dit de cellules embryonnaires, est l'équivalent d'un méristème ; la couronne de massues est une sorte de tissu squelettique, dont les éléments sont comparables, par leur structure et leur mode d'ornementation, aux cellules squelettiques des plantes supérieures. On a donc là l'exemple d'un processus par lequel des êtres unicellulaires simples tels que des bactéries ont acquis quelques-uns des traits qui caractérisent l'organisation d'êtres plus complexes. Il reste à rechercher sous l'influence de quel facteur une telle évolution a pu se produire.

Il convient tout d'abord de remarquer qu'une spécialisation plus ou moins complète de la membrane s'observe assez communément chez les bactéries. Chez les microbes encapsulés tels que le Pneumocoque, la membrane gélifiée qui constitue la capsule peut acquérir une épaisseur considérable. D'autre part, dans l'organisme de divers Rongeurs atteints de tuberculose,

Metchnikoff [36] a observé des « corps en haltères » qui ne sont autre chose que des bacilles tuberculeux à membrane extraordinairement épaissie, calcifiée, et formée de strates concentriques. Il s'agit dans ce dernier cas de productions qui ne sont pas sans analogie avec les massues des actinophytes (1). Toutefois, ces bacilles hautement différenciés restent indépendants les uns des autres, et ne manifestent aucune tendance à cet agencement en édifices cellulaires de forme bien définie, qui est le propre de l'état pluricellulaire.

Cet état se trouve par contre parfaitement réalisé dans un autre groupe de Bactériales, les Myxobactéries ou Symbactéries (2). A l'état végétatif, les Myxobactéries ne se distinguent en aucune manière des bactéries les plus banales. Mais dans certaines conditions, elles produisent des appareils de fructification, sortes de grains visibles à l'œil nu, et constitués par des bactéries enrobées dans une gangue cornée. Chez le *Chondromyces crocatus*, qui est l'espèce la plus évoluée du groupe, ces fructifications atteignent un degré remarquable de complexité morphologique. Elles comprennent en effet un pied, souvent ramifié, supportant une tête arrondie sur laquelle sont régulièrement insérés des kystes cylindriques. Pied, tête et kystes sont formés de bactéries disposées suivant des alignements réguliers, et cimentées par une substance cornée de couleur jaune safran (**53**).

Les fructifications des Myxobactéries rappellent les grains des actinophytes, à cela près que les éléments bactériens qui les composent sont tous semblables, et que la gangue qui les enrobe n'est pas découpée en massues radiées. Malgré ces différences, il paraît légitime de rapprocher des Myxobactéries les bactéries actinophytes telles que le staphylocoque, sous la réserve que comporte tout rapprochement de ce genre, dans

(1) Indépendamment des formes en haltère, on rencontre chez le bacille tuberculeux des formes actinophytiques types.

(2) Le terme de « Symbactéries », synonyme de « Myxobactéries », a été proposé récemment par Pinoy [38].

un groupe aussi hétérogène et à affinités aussi obscures que celui des bactéries.

On doit également, ainsi que l'a montré Pinoy, rattacher aux Myxobactéries les bactéroïdes qui provoquent la formation de nodosités sur les racines des Légumineuses ; dans les cellules des nodosités, ces organismes se présentent souvent sous l'aspect de filaments et de kystes à structure identique à celle des fructifications symbactériennes.

Il existe donc diverses bactéries : bacille tuberculeux, staphylocoque, Myxobactéries, bactéroïdes des Légumineuses, capables de donner naissance, dans certaines circonstances, à des formes hautement différenciées. On peut se demander s'il n'y a pas eu chez tous ces êtres une évolution convergente déterminée par quelque condition de vie qui leur serait commune. Pour rechercher si une telle condition existe, on doit analyser les circonstances dans lesquelles ces formes complexes se développent.

Les fructifications des Myxobactéries apparaissent dans les cultures de façon fort inconstante, et les conditions nécessaires à leur formation restaient jusqu'ici peu connues : on savait qu'elles se produisaient seulement sur des milieux de culture non stérilisés, ou imparfaitement stérilisés. Dans un travail récent[38], E. Pinoy a montré qu'il suffisait, pour les obtenir à volonté, d'associer aux cultures pures de Myxobactéries une bactérie voisine du *Micrococcus luteus*. Les expériences de Pinoy ont porté sur le *Chondromyces crocatus*. En culture pure, cet organisme se développe indéfiniment à l'état végétatif ; mais il suffit de semer à son contact la bactérie jaune symbiotique pour voir apparaître au bout de quelques jours dans le tube de culture un grand nombre de fructifications conformes au type normal. La symbiose avec un autre organisme apparaît donc chez les Myxobactéries comme un facteur nécessaire de l'évolution (1).

(1) Si sous leur forme végétative, les Myxobactéries sont indéfiniment

Les bactéries des Légumineuses ne revêtent leurs formes myxobactériennes que dans les cellules des plantes qui les hébergent. Ces formes n'apparaissent pas dans les cultures pures que l'on peut obtenir de ces organismes. Or le cas des Légumineuses est un exemple classique de symbiose entre plantes supérieures et Thallophytes. Il n'est pas illogique de penser que les conditions particulières créées par ce mode de vie ont pu exercer une influence décisive sur l'évolution morphologique des bactéroïdes.

Les corps concentriques du bacille tuberculeux s'observent chez des Rongeurs particulièrement résistants à la tuberculose, tels que la Gerbille (*Meriones Shawii*). Quand le bacille de Koch s'implante chez un organisme sensible à la tuberculose, les produits toxiques qu'il élabore amènent à plus ou moins brève échéance la nécrose des cellules qui forment le tubercule. Chez la Gerbille, cette nécrose ne se produit pas ; les cellules qui entourent les bacilles restent vivantes. Le bacille tuberculeux végète donc ici dans des conditions fort différentes de celles qu'il rencontre dans l'organisme des animaux sensibles. Il s'y adapte en épaississant sa membrane, et à l'abri de cette cuirasse protectrice, il peut continuer à vivre indéfiniment. Il s'établit dans ce cas, entre le parasite et son hôte, un équilibre qui est proprement une symbiose, puisqu'il permet aux deux organismes commensaux de tolérer une vie en commun indéfiniment prolongée.

Les formes actinophytiques des bactéries s'observent dans des cas relativement assez rares, et seulement au cours de la vie parasitaire de ces êtres. Leur présence est la règle dans les lésions d'actinomycose, mais il s'agit là d'une maladie qui n'est point très fréquente, et d'autre part elles manquent dans des lésions dues à des organismes tels que *Nocardia maduræ*, très voisins des parasites de l'actinomycose. On sait enfin que

bouturables en culture pure, la symbiose ne leur en est pas moins nécessaire au début de leur développement ; en effet, les kystes dont elles dérivent ne peuvent germer qu'au contact de la bactérie associée.

l'inoculation des cultures du microbe de l'actinomycose reste le plus souvent sans résultat. J. H. Wright lui-même, qui a réussi à reproduire expérimentalement la maladie chez le lapin et le cobaye, par l'inoculation de cultures de *Cohnistreptothrix israeli*, signale au cours de ses recherches de nombreux essais infructueux [56].

Les formes actinophytes du bacille de Koch sont relativement très rares dans la tuberculose spontanée. Coppen Jones en a rencontré dans des produits d'expectoration de malades atteints de tuberculose pulmonaire au stade des cavernes [10]. C'est surtout dans la tuberculose expérimentale qu'on a pu les observer, grâce à des conditions d'inoculation très particulières. Babes et Levaditi [2], Lubarsch [33], les ont obtenues en inoculant des bacilles tuberculeux humains ou aviaires dans le cerveau du lapin. Friedrich [15] en a observé dans les reins, le poumon, le cerveau de lapins qui avaient reçu des inoculations intracarotidiennes de bacilles tuberculeux (1). Dalous [12] les a obtenues chez le lapin par inoculations intraveineuses ou locales (dans la trachée ou les méninges), de bacilles tuberculeux aviaires ; il conclut de ses recherches qu'un certain degré de virulence est nécessaire à la production des crosses ; on ne les obtient pas avec des cultures trop atténuées ou trop exaltées.

Quant aux formes actinophytiques du staphylocoque, ainsi qu'on l'a vu plus haut (chapitre III), on doit, pour les obtenir, recourir à des procédés spéciaux d'inoculation, et encore ne les obtient-on pas à coup sûr avec toutes les races de staphylocoques. On voit par là que les divers modes de vie parasitaire que peuvent adopter des bactéries banales telles que le bacille tuberculeux ou le staphylocoque doré ne sont pas également favorables à la différenciation des massues. Hors de certaines conditions très précises, et que doit réaliser un type particulier de parasitisme, cette différenciation ne se produit pas.

(1) Ces divers résultats ont été confirmés par les travaux d'Otto Schulze [51].

Une bactérie telle que le staphylocoque, capable de provoquer chez les animaux auxquels on l'inocule les réactions les plus variées, offrait de notables avantages pour l'étude du déterminisme de la différenciation actinophytique. En inoculant des staphylocoques à plusieurs séries de cobayes, et en faisant varier deux des conditions de l'expérience : le nombre des germes inoculés, et la race de ces germes, on pouvait espérer obtenir toute une gamme de réactions, et voir à quel type de lésion histologique correspondrait la présence des grains. C'est ce qui a été tenté dans l'expérience suivante.

Expérience VII

L'expérience porte sur deux séries de cinq cobayes. Les animaux de la première série reçoivent des doses diverses de staphylocoques isolés d'un cas de botryomycose du cheval ; les animaux de la seconde série reçoivent les mêmes doses d'un staphylocoque isolé d'une mammite de la chèvre. Les germes, provenant de cultures de 24 heures, sur gélose, sont inoculés dans le testicule, sans corps étranger, à l'état de dilution dans 1/4 de centimètre cube d'eau physiologique.

Les tableaux suivants résument les conditions, la marche et les résultats de l'expérience :

Première Série. — **Botryocoque** (Culture de 24 heures sur gélose).

	Dose inoculée	Durée de l'expérience	Résultats
	cgr.		
1er cobaye.	1	11 jours	Eschare du scrotum, molle, brun rouge, étendue, avec empâtement sus-pubien bi-latéral. (L'examen histologique n'a pu être fait, le cobaye ayant disparu accidentellement.)
2e »	10^{-1}	18 »	Tuméfaction fluctuante du testicule, qui atteint le volume d'une noix. Collection purulente formée de polynucléaires nécrosés. Autour de l'abcès, petits nodules botryomycotiques typiques, renfermant des grains à massues ou à gangue amorphe.
3e »	10^{-2}	18 »	Testicule adhérent, dur, bosselé. Nodules botryomycotiques renfermant des grains à massues.
4e »	10^{-3}	18 »	Atrophie du testicule. Foyer inflammatoire formé de cellules épithélioïdes et de cellules géantes, et ne renfermant ni grains, ni staphylocoques isolés.
5e »	10^{-4}	18 »	Réaction minime, réduite à un seul nodule botryomycotique de très petite taille, renfermant un grain à massues.

Deuxième Série. — **Staphylocoque de la chèvre** (Culture de 24 heures sur gélose)

	Dose inoculée	Durée de l'expérience	Résultats
	cgr.		
1er cobaye.	1	Mort en 5 h. 1/4	Congestion violente des viscères.
2e »	10^{-1}	Sacrifié après 25 jours	Empâtement du scrotum et eschare brune, laissant après sa chute une ulcération par où s'écoule du pus. Gros abcès formé de polynucléaires nécrosés.
3e »	10^{-2}	Id.	Atrophie du testicule. Réaction à mononucléaires sans éléments bactériens.
4e »	10^{-3}	Sacrifié après 19 jours	Noyau induré à la partie inférieure du testicule, formé de nodules à polynucléaires, renfermant des grains à gangue amorphe.
5e »	10^{-4}	Sacrifié après 25 jours	Noyau induré à la partie inférieure du testicule, formé de cellules épithélioïdes avec forte réaction fibreuse, et ne renfermant pas d'éléments bactériens.

Le staphylocoque de la chèvre utilisé pour la deuxième série de cobayes est le même qui, en injection intraveineuse, avait produit des formes en massues dans le rein (v. plus haut, expérience VI). A titre de contrôle, ce même germe est inoculé à une troisième série de cobayes, dans le testicule, mais à l'état de culture de 24 heures en bouillon Martin, prise à divers degrés de dilution (doses variant de 1/2 cc. à 1/2 de 10^{-4} cc. de culture). Le tableau suivant résume les résultats de cette troisième série d'essais.

Troisième Série. — **Staphylocoque de la chèvre** (Culture de 24 heures en bouillon)

	Doses de culture inoculées	Durée de l'expérience	Résultats
	cc.		
1er cobaye.	1/2	Mort au bout de 5 jours	Testicule presque entièrement envahi par des collections purulentes confluentes formées de polynucléaires nécrosés et renfermant de nombreux staphylocoques disséminés ou groupés en colonies. A la périphérie des abcès, petits nodules botryomycotiques avec grains à massues.
2e »	$1/2\ 10^{-1}$	Sacrifié après 19 jours	Tuméfaction du testicule, puis ulcération du scrotum, qui donne issue à un pus bourbillonneux. A l'examen histologique, réaction à cellules géantes et à cellules épithélioïdes sans polynucléaires ni staphylocoques.
3e »	$1/2\ 10^{-2}$	Id.	Réaction à peu près nulle.
4e »	$1/2\ 10^{-3}$	Id	Id
5e »	$1/2\ 10^{-4}$	Id.	Tuméfaction fluctuante et volumineuse du testicule, qui renferme deux collections purulentes formées de polynucléaires nécrosés, et renfermant de nombreux staphylocoques disséminés ou groupés en colonies entourées d'un exsudat fibrino-leucocytaire.

Il résulte de l'ensemble de ces faits que l'action réciproque du staphylocoque et de l'hôte qui l'héberge peut aboutir à des résultats opposés suivant la dose et la race des germes inoculés. Si les microbes sont injectés à haute dose, l'animal peut périr d'intoxication générale en quelques heures (série II, 1er cobaye), ou en quelques jours (série III, 1er cobaye). Si on diminue la dose des germes injectés, on obtient par contre un effet purement local, se traduisant par une exsudation leucocy-

taire ; mais dans ce cas encore, la réaction de l'organisme peut affecter des modalités diverses.

Tantôt, et c'est, à quelques exceptions près, ce qui arrive lorsque la quantité de germes inoculés reste relativement élevée, il se produit, sous l'influence des toxines élaborées par les staphylocoques, une nécrose en masse des leucocytes exsudés, qui peuvent être éliminés à l'état de pus du vivant de l'animal (série I, 2e cobaye ; série II, 2e cobaye ; série III, 1er et 5e cobayes). Dans ce cas, le parasite détruit les cellules qui tentaient de faire obstacle à sa progression ; on peut le retrouver à l'état de *cocci* disséminés parmi les polynucléaires nécrosés.

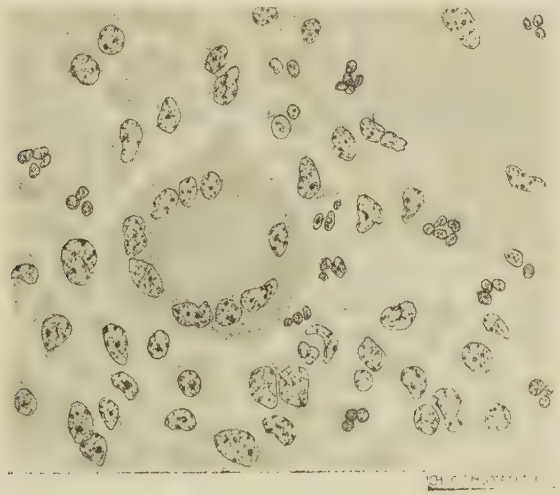

Fig. 1. — Coupe dans un foyer inflammatoire chez un cobaye ayant reçu 10^{-3} cgr. de botryocoques Les bactéries ont été complètement détruites ; la figure montre une cellule géante entourée de cellules épithélioïdes ; en haut et à droite, tissu fibreux. Gr. = 750.

Tantôt, et c'est ce qui arrive le plus généralement quand on injecte des doses infinitésimales de staphylocoques, le résultat est exactement inverse : on observe dans les coupes des foyers leucocytaires formés d'éléments bien vivants, cellules épithélioïdes et cellules géantes, parmi lesquelles se différencient de nombreuses travées fibreuses (fig. 1). Mais les staphylocoques

font totalement défaut (série I, 4e cobaye ; série II, 5e cobaye ; série III, 2e cobaye). Dans de pareils cas, il y a destruction du parasite par les cellules de l'organisme envahi.

La condition intermédiaire, dans laquelle les organismes antagonistes, leucocytes et bactéries, arrivent, en équilibrant leurs forces, à tolérer la vie commune prolongée, se trouve réalisée assez régulièrement dans les cas où l'on inocule des doses moyennes de staphylocoques (série I, 3e cobaye ; série II, 4e cobaye). Il se forme alors des nodules leucocytaires composés d'éléments bien vivants, et groupés dans un ordre constant : polynucléaires au centre, mononucléaires à la périphérie. Mais si les leucocytes résistent dans ce cas efficacement à l'action toxique des bactéries, ils ne parviennent pas d'autre part à les détruire. Les staphylocoques restent en effet groupés en colonies au centre des nodules, et s'adaptent aux conditions de vie qui leur sont imposées en s'entourant d'une gangue généralement découpée en massues.

Il existe d'ailleurs toute une série d'intermédiaires entre les cas où cet équilibre limite est réalisé et les cas où le parasite détruit en masse les cellules de son hôte. Or, à chaque type de réaction cellulaire de l'organisme envahi correspond un mode de végétation différent du staphylocoque. Quand le testicule est envahi en masse par de vastes abcès confluents et nécrosés, les staphylocoques se présentent le plus souvent dans les lésions à l'état de *cocci* disséminés. Si la nécrose est moins étendue, ils tendent au contraire à rester groupés en colonies compactes. Dans le cas où la nécrose se limite à une zone plus ou moins étroite entourant les colonies de staphylocoques, ces dernières apparaissent enrobées dans un exsudat renfermant des leucocytes dégénérés. A une nécrose plus minime encore correspond l'existence des grains à gangue hyaline amorphe, et, en définitive, des grains à massues. On assiste donc là à une évolution progressive du staphylocoque depuis l'état unicellulaire jusqu'à la forme actinophytique la mieux différenciée.

Au surplus, ces divers types de réaction peuvent coexister chez le même animal. Ainsi l'on peut voir, autour d'abcès for-

més de leucocytes nécrosés, des nodules botryomycotiques typiques, renfermant des grains, et constitués par des polynucléaires vivants (série I, 2e cobaye ; série III, 1er cobaye). Une telle diversité de réactions chez un même animal peut s'expliquer par une diffusion inégale de la toxine staphylococcique dans les différentes régions du testicule. L'essentiel est que les grains ne se forment jamais qu'au milieu d'éléments leucocytaires de même type, groupés suivant le même ordre, et offrant le même degré de vitalité. La différenciation actinophytique chez le staphylocoque est donc sous la dépendance de conditions biologiques très étroites. Elle apparaît liée à cet état d'équilibre entre les actions réciproques du parasite et de l'hôte, qui caractérise la symbiose.

En résumé, les formes hautement différenciées que peuvent revêtir les bactéries apparaissent dans les cas où ces organismes vivent en symbiose avec d'autres êtres. Cette symbiose peut affecter les modalités les plus diverses, comme d'ailleurs l'évolution des bactéries qui s'y sont trouvées soumises : symbiose avec des microcoques dans le cas des Myxobactéries ; symbiose avec des cellules de plantes vasculaires dans le cas des bactéroïdes des Légumineuses ; symbiose avec des leucocytes de Vertébrés dans le cas des actinophytes. Il est permis de supposer que la vie en commun avec d'autres cellules, en créant à ces bactéries des conditions d'existence très particulières, n'a pas été étrangère à l'évolution si remarquable qu'elles ont subie.

Cette manière de voir n'implique pas que l'on doive renoncer à obtenir des formes complexes de bactéries en cultures pures, sans le concours de la symbiose. Wright [56] a vu en effet se développer les formes en massues du *Cohnistreptothrix israeli* dans des milieux de culture additionnés de sang, de sérum ou de liquide pleurétique. Pinoy [38] a montré que l'on pouvait obtenir la fructification du *Chondromyces crocatus* en culture pure, sans le concours d'aucun microorganisme associé, à condition d'additionner les milieux nutritifs d'extraits bactériens. Ces expériences sont encourageantes ; elles rendent légi-

time l'espoir d'arriver à la connaissance de conditions physico-chimiques simples, équivalentes à la symbiose, capables de s'y substituer efficacement, et par là, d'éclairer son mécanisme.

On pourra s'étonner de voir qualifier de symbiose certaines modalités de l'infection tuberculeuse ou staphylococcique. La notion de symbiose n'implique-t-elle pas l'existence d'une « association mutualistique entre des commensaux capables de s'entr'aider ? » Ne s'oppose-t-elle pas par là à la notion de maladie ? On sait depuis les découvertes de Noël Bernard que cette conception finaliste doit être abandonnée : la symbiose n'est en effet qu'un cas particulier de l infection ; entre les deux conditions extrêmes de la maladie mortelle et de l'immunité, elle représente la « condition intermédiaire où les deux organismes antagonistes arrivent, en équilibrant leurs forces, à tolérer la vie en commun prolongée ».

A la suite de ses études sur les plantes à mycorhizes, Noël Bernard formule cette conclusion, que l'action continue de la symbiose a eu un rôle essentiel pour la formation des espèces végétales [4]. Les faits énumérés dans le présent chapitre suggèrent que le même facteur a pu, dans une certaine mesure, présider à l'évolution qui, à partir des formes les plus rudimentaires de la matière vivante, a donné naissance à des êtres doués d'une organisation déjà complexe.

VU :
Le Président de la thèse,
GILBERT.

VU :
Le Doyen,
LANDOUZY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. André et Chavannaz, Un cas de botryomycose humaine. *Journal de médecine de Bordeaux*, t. XXXII, 1902.

2. Babès et Levaditi, Sur la forme actinomycosique du bacille de la tuberculose. *C. R. Acad. Sciences*, 1897, 1er semestre ; *Arch. de méd. expérim.*, t IX, 1902.

3. Ball, Botryomycose animale et botryomycose humaine. Champignon de castration et botryomycose. *Archives générales de médecine*, 1904.

4 Bernard (Noël). L'évolution dans la symbiose, *Ann. des Sc. nat., Botanique*, 9e série, 1909.

5. Bollet, Botryomycose de la peau du bœuf. *Soc. des sciences vétérinaires de Lyon*, mars 1903.

6. Bollinger. Mycosis der Lunge beim Pferde. *Arch. für Path. und Phys.*, t. XLIX. 1870.

7. Brumpt (E), Les Mycétomes. *Arch. de Parasitol.*, t. X, 1906.

8. Césari (E.), Deux nouveaux cas de botryomycose généralisée chez le cheval *Bull. de la Soc. centrale de méd. vétérinaire*, 1912, p. 400.

9. Chaussé (P.), Etude sur la botryomycose chez le cheval. *Arch. médicales d'Angers*, 1905.

10 Coppen Jones, Uber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkelpilzes und über die Kolbenbildung bei Aktinomycose und Tuberculose. *Centralbl. für Bakt.*, t XVII, 1895.

11. Csokor, Un cas de botryomycose chez le bœuf *Soc. des médecins de Vienne*, nov. 1890. — Anal. *in Semaine médicale*, 1890, p. 436.

12. Dalous. Recherches expérimentales sur les formes actinomycosiques du bacille de la tuberculose (type aviaire). *Thèse de Toulouse*, 1901.

13. Dor, Anatomie pathologique comparée de la botryomycose humaine et de la botryomycose équine. *Congrès de chirurgie*, 1898.

14. Dor, Un cas de botryomycose du bœuf. *Lyon médical*, juillet 1903.

15. Friedrich (L), Uber Strahlenpilzähnliche Wuchsformen des Tuberkelbacillus im Tierkörper. *Deutsche med. Woch.*, oct. 1897.

16. Galli-Valerio, Contribution à l'étude de la botryomycose. *Centrablatt für Bakter., I., Origin.*, t. XXXI, 1902.

17. Günther. Botryomycome in der Leber eines Rindes, *Zeitschr. für Fleisch-und Milchhygiene*, oct. 1899.

18. Hennenger, Ein Beitrag zu den Rabe-Johne'schen Abhandlungen über

mykotische Bindegewucherung. *Bad. tierarztliche mittheil.*, t. XXII, 1887, p. 134.

19. Huber, Un cas de botryomycose chez le bœuf *Woschenschrift für Tierheilkunde*, 1er nov. 1904. Anal. *in Revue gén. de méd. vétérinaire*, 1904, 2 p. 567.

20. Immelmann, Botryomyces im Eiter einer Kuh. *Arch. für Tierheilk.*, t. XIX., 1893, p. 103.

21. Johne, Das Myco-Fibrom oder Myco-Desmoid des Pferdes. *Berichten über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen*, 1885, p. 41 et 1886, p. 48.

22. Id., Zur Actinomycose des Samenstranges bei Pferden. *Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin*, t. XII, p. 73.

23. Id., Beiträge zur Aetiologie der Infectionsgeschwülste, Funiculitis mycotica chronica s. actinomycotica *Ibid*, t. XII, p. 204

24. Jong (de), Untersuchungen über Botryomyces. *Thèse de Leyde*, 1889.

25 Kayser et Gryns, Cas de botryomycose rappelant le pied de Madura, *Geneesk. Tijdschr. voor Nederl. Indië*, t VIII, 1907.

26. Kitt, Der Micrococcus ascoformans und das Mykofibrom des Pferdes. *Centralblatt f Bakt*, 1888, I. p, 177.

27. Labbé (Alphonse), Contribution à l'étiologie de la botryomycose humaine. *Thèse de Paris*, 1909.

28 Legroux (Louis), La botryomycose. *Thèse de Paris*, 1904.

29. Lenormant, Sur la prétendue botryomycose humaine. *Annales de dermatologie et de syphiligraphie*, avril 1910.

30. Letulle, La botryomycose, histogénèse, nature parasitaire. *C. R. Soc de Biol.*, 1908 t, p. 267

31. Id., La botryomycose, son histogénèse, sa nature parasitaire *Journal de physiol. et de Path. générale*, t. X, mars 1908, p 256-266.

32. Lignières et Spitz, L'actinobacillose *Recueil de Médecine vétérinaire*, VIIIe série, tome IX. sept. 1902.

33. Lubarsch (O.), Zur Kenntniss der Strahlenpilze. *Zeitschrift f. Hygiene*, t. XXXI. 1899.

34 Magrou (J.), Sur la botryomycose expérimentale. *C. R. Soc de Biol.*, t. LXX, février 1911, p. 220.

35. Mary, Bactériologie de la botryomycose. *Archives vétérinaires de Saint-Pétersbourg*, 1894. Anal *in Journal de médecine vétérinaire*, 1895, p. 360.

36. Metchnikoff (E.). L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris, 1901.

37. Nocard, Les maladies infectieuses des animaux, t. II, Paris. 1903.

38. Pinoy (E.), Sur la nécessité d'une association bactérienne pour le développement d'une Myxobactérie, *Chondromyces crocatus*. *C. R. Acad. des Sc*, 7 juillet 1913.

39. Id., Actinomycoses et mycétomes. *Bull. Institut Pasteur*, 1913.

40. Pinoy et Magrou, Sur une méthode de diagnostic possible de la sporotrichose par inoculation directe du pus au cobaye. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXXI, nov. 1911, p. 387.

41. Pinoy et Ravaut, Actinobacillose à forme méningée observée à Paris chez un Argentin (Premier cas chez l'homme de cette affection). *Presse médicale*, janvier 1911.

42 Id , Sur une nouvelle forme de discomycose cutanée. *Ann. de Dermatologie et de Syphiligraphie*, 4e série, tome IX.

43. Poncet et Dor, La botryomycose. *Arch générales de méd.*, février et mars 1900.

44. Rabe, Uber mycotische Bindegewebschwürung bei Pferden. *Deutsche Zeitschrift f. Tiermedicin*, t. XII, 1886.

45. Reali, Botryomycose chez le bœuf. *Clinique vétérinaire*, 1900, n° 22.

46. Reverdin et Julliard, Un cas de botryomycose humaine. *Revue méd. de la Suisse romande*, nov. 1900.

47. Rivolta. Del micelio e della varieta e specie di discomiceti patogeni. *Giorn. di anat. fisiol.*, Pisa. XVI, 1884.

48. Sabrazès et Casaux, Colloïde du tissu conjonctif et des cellules géantes dans un cas d'hyperplasie conjonctivale des paupières, suite de trachome. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXXII, février 1912, p 241.

49. Sabrazès et Laubie, Lésion framboesiforme de la région frontale, simulant le pian des pays chauds et la botryomycose *Arch. de parasitologie*, 1898, p. 410

50. Id., Non-spécificité de la botryomycose. *Arch. gén de méd.*, 1899. p. 513.

51 Schulze (Otto), Untersuchungen über die Strahlenpilzformen der Tuberkuloseerreger. *Zeitschrift. f. Hygiene*, t. XXXI, 1899.

52. Turnau, Un cas de botryomycose généralisée chez le cheval. *Zeitschrift für Fleisch-und Milchhygiene*, juin 1903, p. 317. Anal. *in Revue gén. de méd vétérinaire*, 1903. 2. p. 214.

53. Vahle (Carl), Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazeen und Bakteriazeen sowie die Rhodobakteriazeen und Spirillazeen. *Centralblatt für Bakt.*, II, t XXV, 1910.

54. Vallillo (Giovanni), Del nodulo botriomicotico. *Pathologica*, 1911, n° 57.

55. Wilbrandt, Ein Fall von hochgradiger botryomykose beim Schwein. *Zeitschr f. Fleisch und Milchhygiene*, 1894, t. IV. p. 3.

56. Wright (James Homer). The biology of the Microörganism of actinomycosis *Publications of the Massachusetts General Hospital*, Boston, May 1905.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. 1. — Coupe d'un grain botryomycotique dans le poumon d'un cheval. *s*, staphylocoques ; *p*, paroi du grain ; *l*, leucocytes polynucléaires. Coloration : éosine orange, bleu de toluidine. Gr. = 340.

Fig 2. — Coupe d'un grain botryomycotique dans le testicule d'un cobaye ; *s*, staphylocoques ; *m*, massues ; *p*, polynucléaires. Coloration : Gram, picro-indigo-carmin. Gr. = 260.

Fig. 3. — Détail d'un grain botryomycotique chez le cobaye, montrant l'ornementation échinulée des massues. Coloration : Gram, picro-indigo-carmin. Gr. = 520.

Fig. 4 — Massues actinomycotiques à ornementation échinulée. Gr. = 450.

Fig 5. — Coupe d'un grain staphylococcique chez un cobaye. *s*, staphylocoques ; *m*, massues ; *m'*, massues coupées transversalement, montrant leur structure concentrique. Coloration : éosine-orange, bleu de toluidine. Gr. = 650.

Fig 6. — Coupe dans le testicule d'un cobaye, montrant un grain botryomycotique à un stade précoce de son évolution. *m*, massues ; *m'*, massues en voie de formation, renfermant des staphylocoques bien reconnaissables ; *t*, staphylocoques groupés en tétrades ; *p*, polynucléaires ; *mn*, mononucléaires. Coloration : éosine-orange, bleu de toluidine. Gr. = 800.

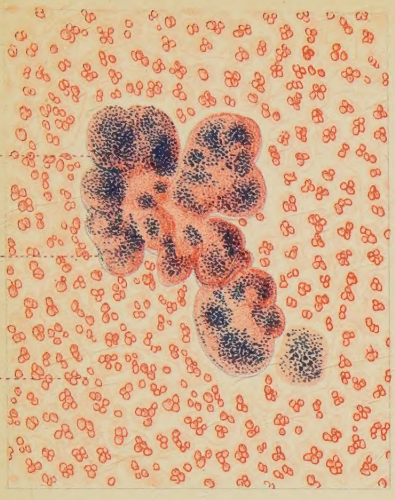

Fig. 1.

Fig. 3.

Fig. 2.

Fig. 5.

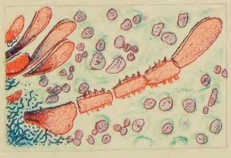

Fig. 4.

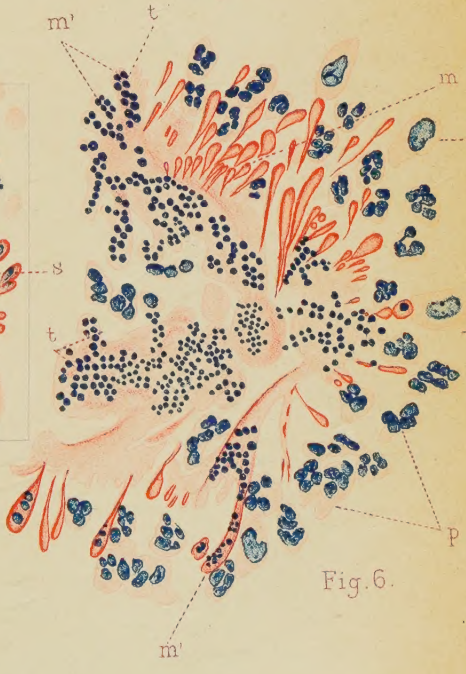

Fig. 6.

Magroux et Constantin del.

C. Constantin lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 2

CHAPITRE PREMIER

La botryomycose spontanée chez le cheval 4

CHAPITRE II

Bactériologie de la botryomycose. Botryocoque et staphylocoque . . 13

CHAPITRE III

Inoculations expérimentales 17

CHAPITRE IV

Morphologie des grains staphylococciques. — Les formes actinomycotiques du staphylocoque 26

CHAPITRE V

Facteurs de la différenciation chez les bactéries. — Conclusion . . . 38

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE 51

EXPLICATION DE LA PLANCHE. 54

LAVAL. — IMPRIMERIE L. BARNÉOUD ET Cie.